

**BİTKİSEL KAYNAKLI PROTOPİNDEN SENTEZLENEN
PROTOPİN N-OKSİTİN PİROLİZ ÜRÜNLERİ ÜZERİNDE
SPEKTRAL ANALİZ ÇALIŞMALARI**

T 70295

Farmasötik Kimya Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. A. Selcen ALAN

T.C. Ege Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Danışman Öğretim Üyesi

Yard. Doç. Dr. Mustafa Baysal



Bu çalışmayı değerli bilgi ve yardımları ile yöneten Sayın **Yard. Doç. Dr. Mustafa Baysal'** a, çalışmalarım esnasında çok değerli yardım ve bilgilerini gördüğüm, ayrıca spektrumların çekilmesinde büyük emeği geçen Sayın **Prof. Dr. Belkis Gözler'** e, bilgisayar çalışmalarım sırasındaki ilgilerinden dolayı Sayın **Prof. Dr. Varol Pabuçcuoğlu'** na teşekkür eder, sonsuz saygılarımı sunarım.

Ayrıca; moral destekleri ile bana güç veren tüm çalışma arkadaşlarıma ve özellikle aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	1
TEORİK BÖLÜM	3
A. Protopin Alkaloidleri	3
B. N-Oksitler	7
1. Genel Bilgiler	7
2. Sentez Yöntemleri	7
a. Tersiyer Aminlerin Oksidasyonu	7
b. Alkil Halojenürlerle Oksim veya Hidroksilaminlerin Reaksiyonu	8
c. Aromatik Nitro Bileşiklerinin Redüktif Siklizasyonu	8
d. Wohl-Aue Reaksiyonu	9
e. Aromatik Nitrozo Bileşiklerinin Aktif Metilen Bileşikleriyle Reaksiyonu	9
3. Kimyasal Tepkimeler	10
a. Eliminasyon	10
b. Alkilleyici ve Açılleyici Ajanlarla Etkileşmeler	11

c. Redüksiyon	12
d. Süstitüsyon	13
e. Termal Dekompozisyon	13
f. Çevrilme Tepkimeleri	15
g. Fotoliz	17
h. Asitle Katalizlenen Oksijen Transferi	18
4. Farmakoloji	19
C. Yapı Tayininde Kullanılan Enstrümental Yöntemler	20
DENEYSEL BÖLÜM	24
A. Materyal	24
B. Metodlar	24
1. İnce Tabaka Kromatografisi	24
2. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi	25
3. Spektral Analizler	26
4. Kimyasal Tepkimeler	27
a. Protopin' den Protopin N-Oksit Sentezi	27
b. Protopin N-Oksit' in Pirolyzi	27
c. SA-B Bileşiminin Asetilasyonu	28
5. Spektral Bulgular	29
a. SA-7 Bileşiminin Spektral Bulguları	29
b. SA-B Bileşiminin Spektral Bulguları	45
c. Asetil SA-B Bileşiminin Spektral Bulguları	56
d. SA-C Bileşiminin Spektral Bulguları	59

TARTIŖMA VE SONUÇ	65
A. SA-7	65
B. SA-B	70
Asetil SA-B	74
C. SA-C	75
SONUÇ	77
ÖZET	78
SUMMARY	79
KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŖ	83

GİRİŞ

İzokinolin alkaloitlerinin alt sınıfını oluşturan protopin alkaloitleri, doğada çok yaygın bir halde bulunmakta ve değişik familyalara ait birçok bitki türünün alkaloit profili içerisinde yer almaktadır. Bu grubun prototipi olan bileşik yine protopin adıyla anılır. Literatüre göre bazı belirgin farmakolojik ve fizyolojik etkilere sahip olduğu bilinen bu bileşik, önceki yıllarda gerek anabilim dalımızda ve gerekse Farmakognozi anabilim dalında gerçekleştirilen fitokimyasal araştırmalarda oldukça bol miktarda elde edilmiş ve saflaştırılmıştır. Bu nedenle çalışmamızda başlangıç bileşiği olarak bu doğal üründen yararlanılarak bazı yarı-sentetik bileşiklerin kazanılması planlanmıştır.

Bu çerçevede gerçekleştirilen literatür araştırmalarında, protopin N-oksit'in pirolizi sonucunda elde edilen bazı ilginç ürünleri rapor eden ve 1980 li yılların başlarında yayınlanmış iki araştırmaya rastlanmıştır. Ancak bu araştırmalarda elde edilen ürünlerin NMR verilerinin, o günün şartlarında mümkün olan tek boyutlu NMR deneylerine dayanılarak rapor edildiği görülmüştür.

Bu nedenle, çift boyutlu NMR tekniklerinden yararlanmak sureti ile, rapor edilmiş bulunan verileri ve dolayısı ile önerilmiş olan yapıları irdelemek,

ayrıca söz konusu çalışmalarda rapor edilmemiş olan bazı spektral bulguları sağlamak amacıyla, benzer bir çalışmanın tekrarlanması düşünülmüştür.

Çalışmamızın deneysel kısmı, izolasyonla elde edilmiş bulunan protopinden, N-oksidasyonla protopin N-oksit elde edilmesi, bu ara ürünün vakumda pirolizi ile kazanılan muhtelif ürünlerin saflaştırılması ve yapılarının özellikle çift boyutlu NMR deneylerinden yararlanmak suretiyle incelenmesinden oluşmaktadır.



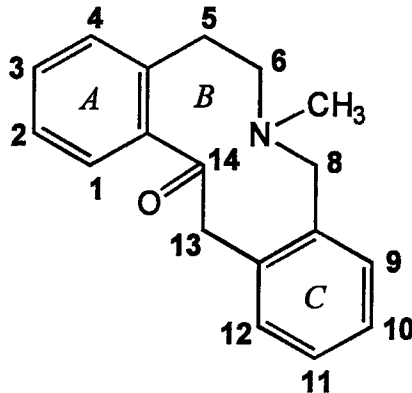
TEORİK BÖLÜM

A. PROTOPİN ALKALOİTLERİ

Alkaloit literatüründe izokinolin alkaloitlerinin bir alt grubu olarak sınıflandırılan protopin alkaloitleri, iki benzen halkası ile kaynaşmış olan on üyeli azotlu bir heterosiklik halka taşıyan bileşiklerdir. Bu grubun üyeleri doğal olarak Berberidaceae, Fumariaceae, Papaveraceae, Ranunculaceae ve Rutaceae familyalarında yaygın olarak bulunurlar.

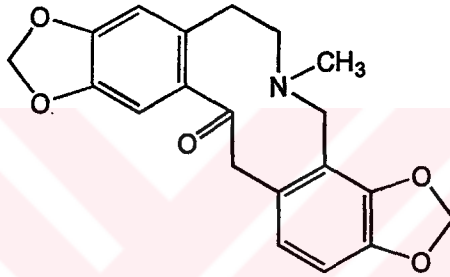
Protopinler, izokinolin alkaloiti olarak sınıflandırılmalarına rağmen, gerçekte bir izokinolin halkası içermezler. Bu alkaloitlerin izokinolin alkaloitleri altında sınıflandırılmalarının nedeni, in vitro şartlarda izokinoline dönüştürülebilir olmalarıdır (1).

Protopinler, 14 konumunda bir konjuge keton işlevsel grubu içeren 7-metil-5,6,7,8,13,14-hekzahidrodibenz[c,g]azesin halka sistemi taşırlar.



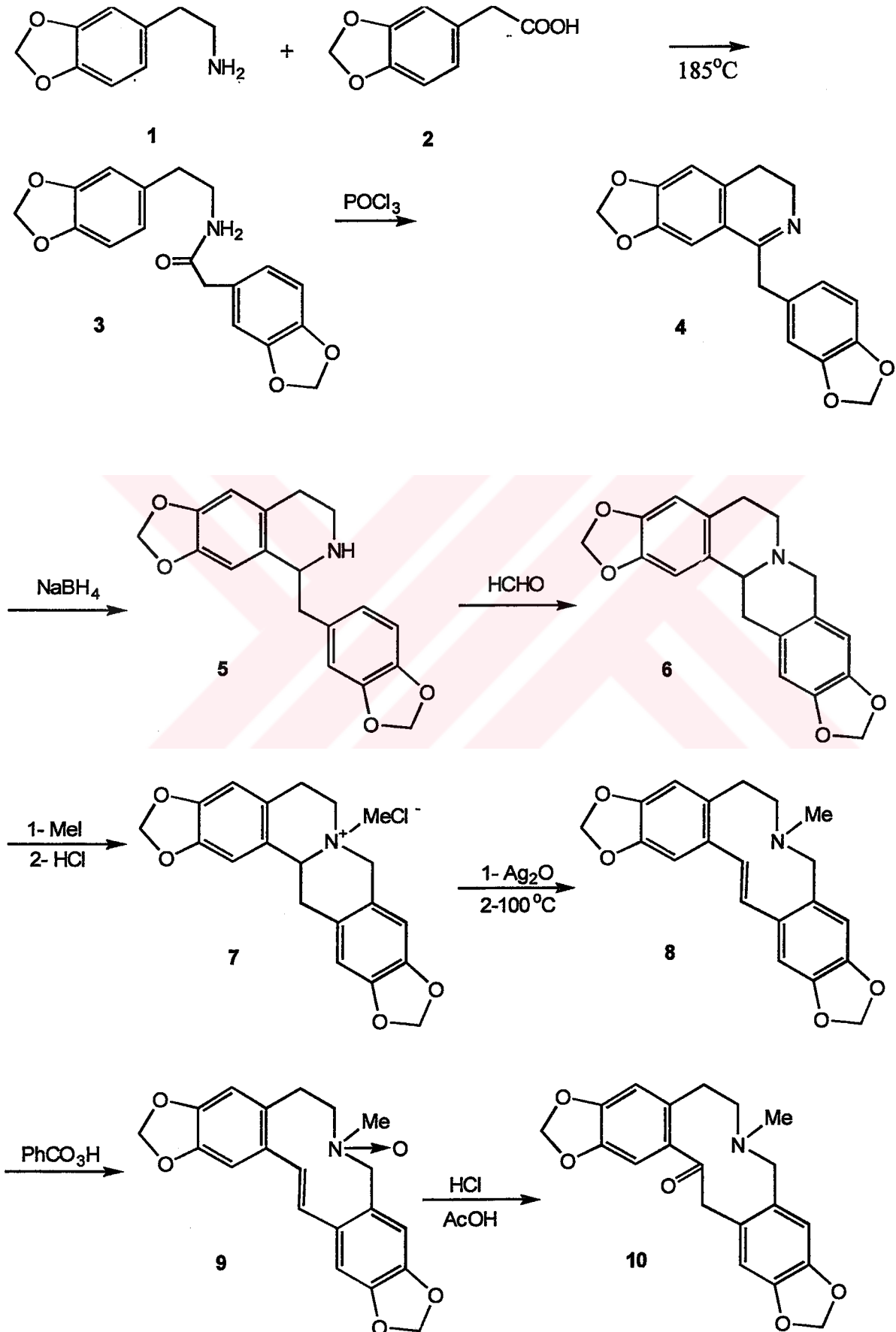
Bilinen doğal protopinler, A halkasında 2 ya da 3, C halkasında ise 2 olmak üzere 4 ya da 5 oksijenli süstitüent içerirler. Bu süstitüentlerin konumları, ^1H NMR spektrumundaki aromatik sinyallerin bölünmelerinden, ya da kütle spektrometrisinde retro-Diels-Alder parçalanmasıyla oluşan karakteristik fragmentlerden tanımlanabilmektedir. 13 konumunda oksijen ya da metil grubu bulunan protopinler de bilinmektedir (2).

Bu grubun prototipi olan protopin adlı alkaloit, $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{O}_5\text{N}$ kapalı formülüne sahiptir.



Protopin doğal kaynaklardan ekstraksiyonla elde edilebildiği gibi, total sentezi de Sotelo ve Giacopello tarafından gerçekleştirilen Perkin metodu ile yapılabilir (3). Bu yöntemde, homopiperonilamin (1) ve homopiperonilik asidin (2) kondansasyonu ile oluşturulan amit, Bischler-Napieralski reaksiyonu (3→4) ile siklizasyona uğrayarak 3,4-dihidroizokinolini verir. Sodyum borohidür redüksiyonu ile (4→5) kazanılan tetrahidroizokinolin analogu, formaldehit (5→6) ile muamele sonucu tetrahidroprotoberberin'e (6) dönüştürülür. Bu bileşiğin katernizasyonu ile elde edilen 7 no lu ara ürün üzerinde gerçekleştirilen Hoffman çevrilmesi sonucunda metin bazı (8) oluşur. 8 in perbenzoik asit ile tepkimesiyle oluşan N-oksit (9) asitle muamele edildiğinde, 14 konumundaki karakteristik keto grubu ve dolayısıyla protopin çekirdeği

oluşur. Aşağıdaki şemada pseudoprotopin'in sözkonusu yöntemle total sentezi gösterilmiştir.



Burtsev ve arkadaşları protopinin antiaritmik aktiviteye sahip olduğunu ve fareler üzerinde kalsiyum klorür ve akonitinin sebep olduğu kardiyak aritmilere kinidin ya da novokainamitden daha etkili olduğunu bulmuşlardır (4). Bu araştırmalar, protopinin antiaritmik etki mekanizmasının heterotropik stimülasyonun fokal supresyonu, miyokardiyal hücrelerin eksitabilitesi üzerindeki azalma ve miyokardın katekolamin içeriğinin normalizasyonu nedeni ile olduğunu önermişlerdir.

Yue, protopinin fareler üzerinde analjezik etkisinin gözlemlendiğini ve tavşanlarda duodenal kontraksiyonları inhibe ettiğini ifade etmiştir (5). Ayrıca protopinin izole fare ileumu üzerinde asetilkolin ve baryum klorürün neden olduğu spazmlara karşı antagonist olduğu gözlenmiştir.

Karados ve arkadaşları, protopinin fare beyin sinaptik membran reseptörlerine γ -[³H]-aminobütirik asit bağlanmasını arttırdığını ve diazem benzeri etkiye sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir (6).

Protopinin tromboksan sentezi ve PAF için güçlü bir inhibitör etkiye sahip olduğu ve antiinflamatuvar özellikler gösterdiği rapor edilmiştir (7, 8).

B. N-OKSİTLER

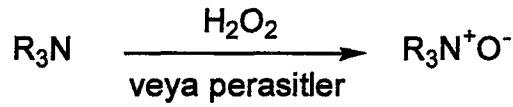
1. Genel Bilgiler

Primer ve sekonder aminlerin oksidasyonları sonucunda hidroksilaminler, oksimler, nitrozo ve nitro bileşikleri, aldehit ve ketonlar gibi değişik işlevsel gruplar oluşabilir. Tersiyer aminlerin oksidasyonu ise amin oksitleri verir.

2. Sentez Yöntemleri

a. Tersiyer Aminlerin Oksidasyonu

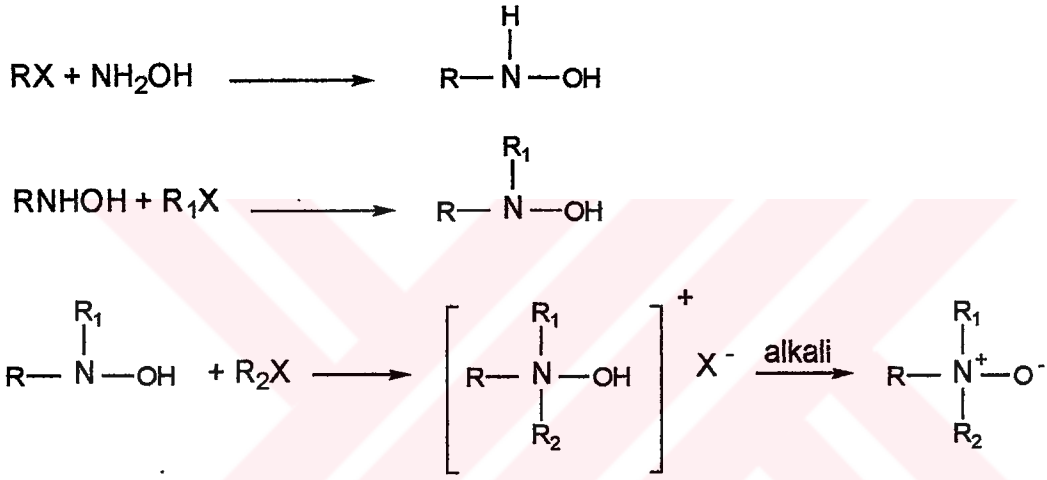
Tersiyer aminlerin muhtelif ajanlarla oksidasyonu, genel bir N-oksit hazırlama yöntemidir.



Oksidan ajan olarak peroksit ya da perasitler kullanılabilir. Apolar çözücülerde *m*-klorobenzoik asid kullanımı iyi sonuçlar verir. Bu tepkime oda temperatürünün altında ya da oda temperatüründe hızlı bir şekilde yürür. N-oksit verimleri genellikle yüksektir ve çoğunlukla %100 e yakındır.

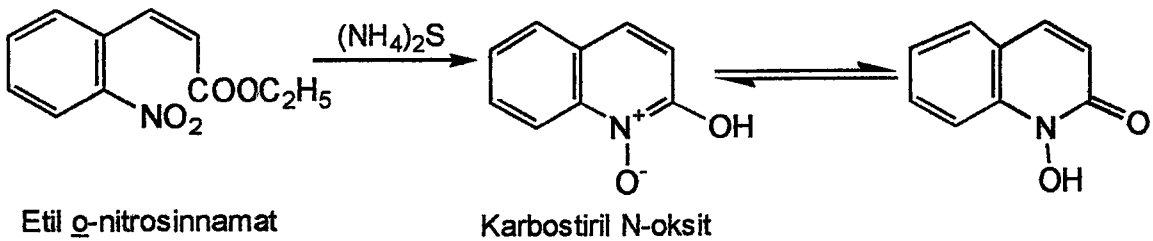
b. Alkil Halojenürlerle Oksim Veya Hidroksilaminlerin Reaksiyonu

Hidroksilaminin alkil halojenürlerle tepkimesi, genel amin alkillenme kurallarına uyarak trialkilhidroksilamin halojenür verir. Bu bileşiğin alkali ile muamelesi sonunda ise tersiyer amin oksit elde edilir.



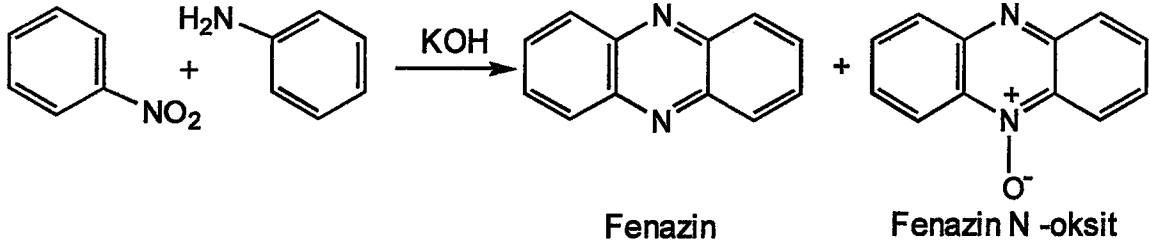
c. Aromatik Nitro Bileşiklerinin Redüktif Siklizasyonu

Friedlander ve Ostermaier, etil o-nitrosinamatın amonyum sülfürle yapılan redüksiyonu sonucunda, karbostiril yanısıra karbostiril N-oksit kazanıldığını göstermiştir (9).



d. Wohl-Aue Reaksiyonu

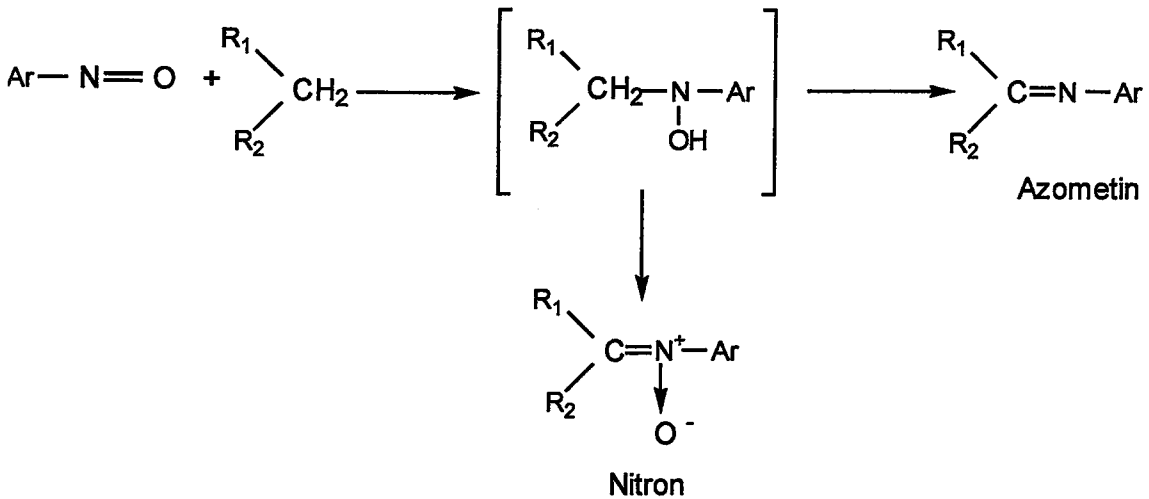
Nitrobenzen ve anilinın toz halinde potasyum hidroksitle ısıtılması fenazin ile beraber fenazin N-oksit vermiştir (10).



e. Aromatik Nitrozo Bileşiklerinin Aktif Metilen Bileşikleriyle

Reaksiyonu

Aromatik nitrozo bileşikleri aktif metilen bileşikleriyle etkileştiklerinde ya bir azometin ya da bir nitron verirler. Azometinler su kaybıyla ara ürünün üzerinden oluşur. Buna karşılık nitron oluşumu için dehidrojenasyon ve ara ürünün iki molekül daha nitrozo bileşiğiyle reaksiyona girmesi gerekir.



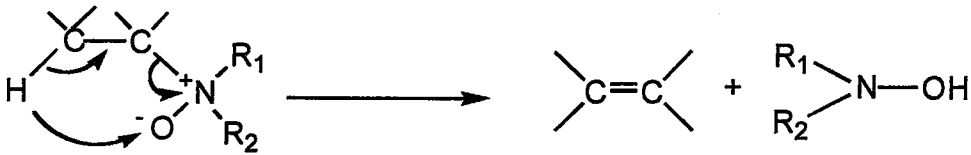
3. Kimyasal Tepkimeler

N-oksitlerin bitkilerde doğal olarak bulunuşlarının yanısıra, N-oksidasyon tepkimesinin hayvan metabolizmasında da önemli bir rolü olması, bu bileşiklerin kimyalarının ve fonksiyonlarının ayrıntılı olarak incelenmesine neden olmuştur. Burada N-oksitlerin rol aldıkları çok sayıda ve değişik tepkimelerden sadece karakteristik olanlardan söz edilecektir.

a. Eliminasyon

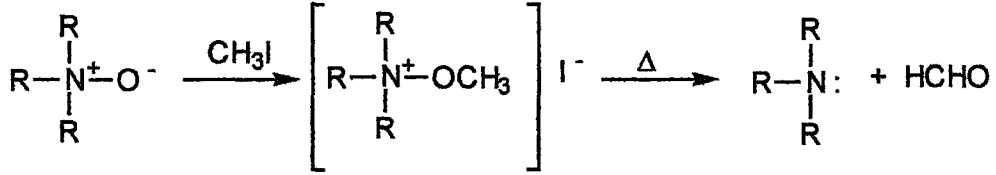
Cope Eliminasyonu

N-oksitlerin rol aldıkları en önemli tepkimelerden biridir. Cope eliminasyonu stereoselektif bir işlemdir ve beş üyeli E_i mekanizması ile gerçekleşir. Tepkimenin cereyan edebilmesi için bileşiğin oldukça düzlemsel olması ve azotun sübstitüentlerinden birinde bağ yapabilecek mesafede bir β -hidrojenin bulunması gerekir. Ürün olarak alken ve sübstitüe amin elde edilir.



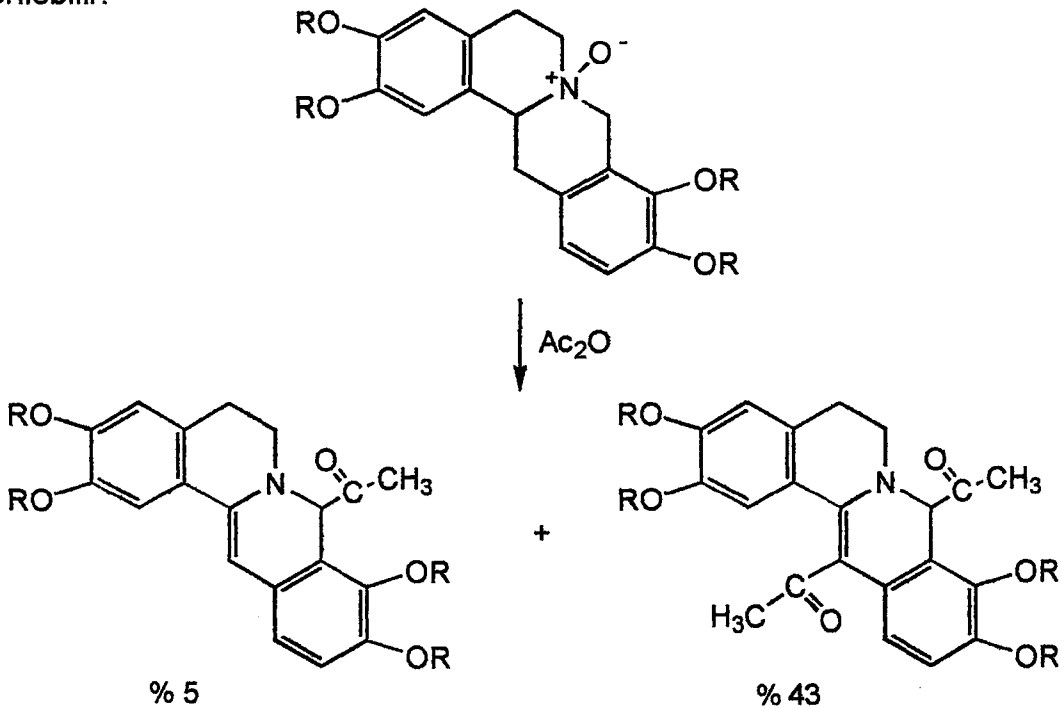
b. Alkilleiyici ve Ailleyici Ajanlarla Etkileşmeler

Bir tersiyer aminin N-oksiti soğukta metil iyodürle birleşerek katerner türevini verir. Bu bileşik ısıtılırsa formaldehit vererek tersiyer amine geri döner.



Buna göre tersiyer azot mevcudiyetinde, amin grubunu katernizasyondan koruyup molekülde bulunan diğer bazı fonksiyonel grupların alkilasyonunu sağlayabilmek için N-oksidasyonun geçerli bir işlem olduğu bildirilmiştir (11).

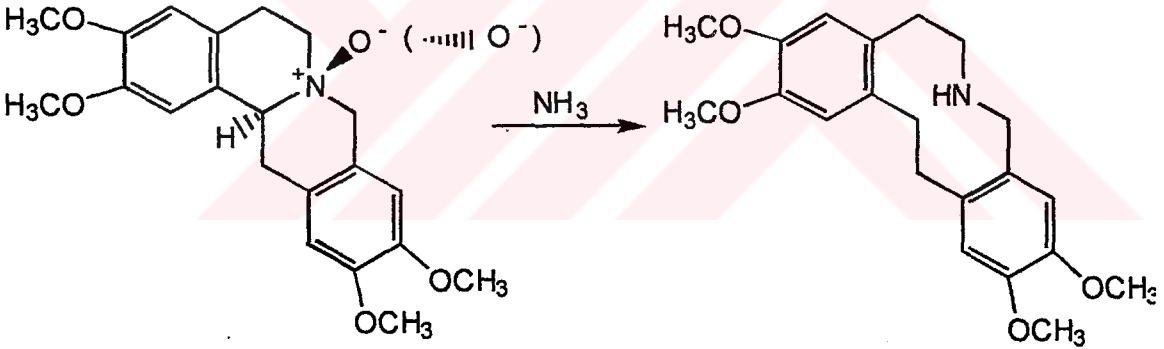
Bazı alkaloit N-oksitlerin, özel tepkime şartlarında α -karbon açilasyonunu mümkün hale getirdiği bilinmektedir. Bu tepkimeye örnek olarak bir tetrahidroprotoberberin N-oksitin asetik anhidrit yardımıyla α -açilasyonu verilebilir.



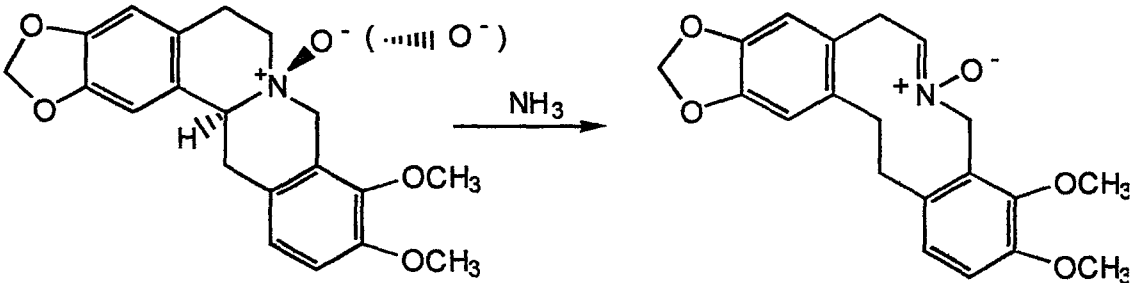
c. Redüksiyon

N-oksitlerin redüksiyonu, aminin türüne bağlı olarak değişik ajanlarla ve değişik hızlarla gerçekleştirilebilir. Örneğin alifatik amin oksitler yumuşak bir redüktörle bile tersiyer aminlere redüklenebilirken, aromatik amin N-oksitler redüksiyona belirgin derecede rezistans gösterirler. Ancak yüksek ısı ve basınçta ve nikel katalizörler karşısında yapılan redüksiyonla karşı gelen tersiyer aminler oluşur (12). Trifenilfosfin ise hemen tüm amin oksitleri kantitatif olarak tersiyer bazlarına indirgeyebilen bir ajandır.

Trans ve *cis*-ksilopin N-oksitlerin sıvı amonyakla tepkimesi sonucunda karşı gelen sekonder amin elde edilmiştir (13).



Ancak *trans* ve *cis*-kanadinin aynı şartlarda yürütülen tepkimesinde, sekonder aminin az miktarda husule geldiği, buna karşılık ara ürünün nitron olduğu saptanmıştır (13).



d. Sübstütüsyon

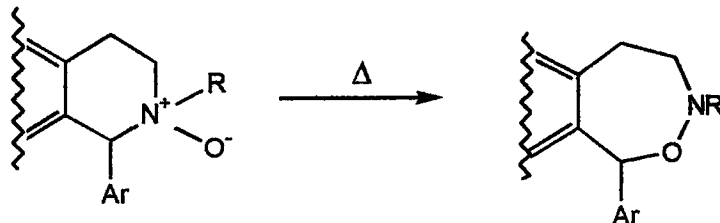
Heterosiklik amin oksitler, birisi olağan elektrofilik sübstütüsyon, diğeri ise tersiyer aminlerde cereyan etmeyen bir nükleofilik sübstütüsyon-redüsiyon kombinasyonu olmak üzere iki farklı tip sübstütüsyon yaparlar. Ayrıca piridin türevi olan, ya da piridin halkası içeren heterosiklik N-oksitlerde sübstütüsyonun, karşı gelen tersiyer bazların sübstütüsyonuna kıyasla çok daha kolay yürümesi, N-oksitlerin heterosiklik kimyada çok önemli bir ara ürün olarak kabul edilmelerine neden olmuştur.

e. Termal Dekompozisyon

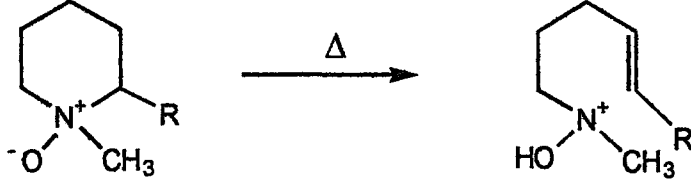
N-oksitlerin çoğu 100-200⁰ C arasında dekompoze olurlar. Bu olay aminin cinsine göre farklılık gösterir.

Aromatik ve heterosiklik amin oksitlerde en çok rastlanan piroliz ürünü, oksijen eliminasyonu ile elde edilen tersiyer bazlardır. Ancak termal dekompozisyonla N-demetilasyonun da gerçekleştiği görülmüştür (14).

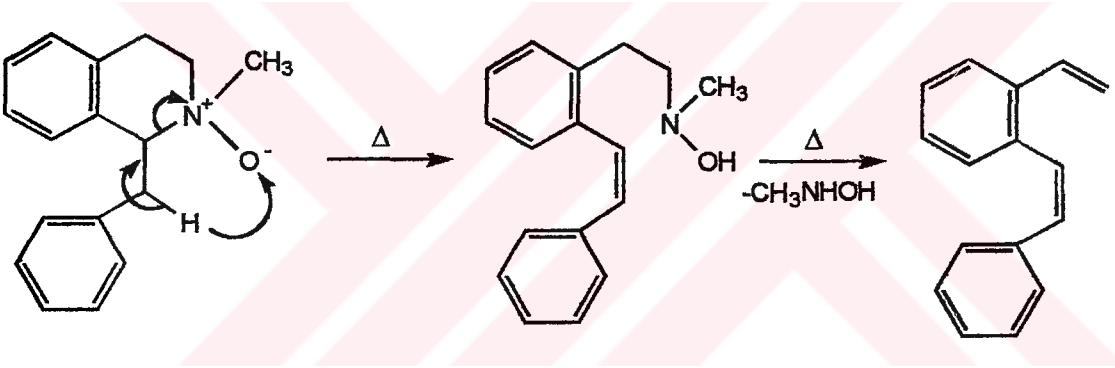
Oksijen eliminasyonu ile tersiyer bazın geri kazanılması, alifatik tersiyer aminlerden türeyen N-oksitlerde de mümkündür. Ancak bu tür amin oksitlerin pirolizinde daha sıklıkla rastlanan tepkimeler, eliminasyon ya da çevrilmedir. Örneğin azota göre α -karbon üzerinde aromatik bir yapı taşıyan N-oksitler genellikle Meisenheimer tepkimesine girerler ve halka genişlemesi meydana gelir (15 - 17).



Azota göre α -konumunda aromatik bir sübstitüent taşıyan bazı türevlerin pirolize dayanıklı olduğu, ne çevrilme ne de eliminasyon ürünü vermediği, diğer bazı türevlerin ise β -eliminasyon ile alken ve sübstitüe hidroksilamin türevlerine dönüştüğü saptanmıştır (16).

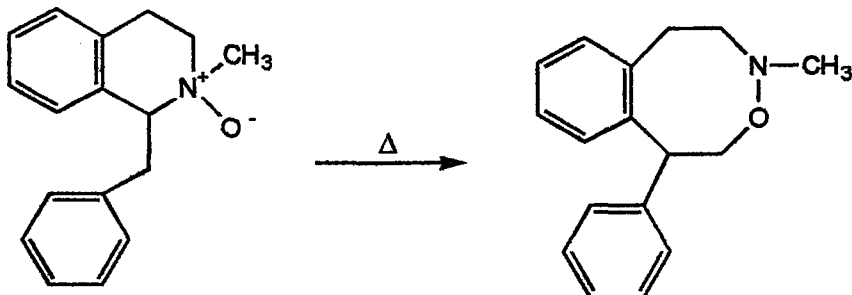


α -karbon üzerinde benzil bulunan türevlerde oluşan stilbenoid yapısı intramoleküler bir saldırıya açıktır. Bu yüzden daha ileri bir tepkime ile azotsuz bileşikler kazanılır (18).

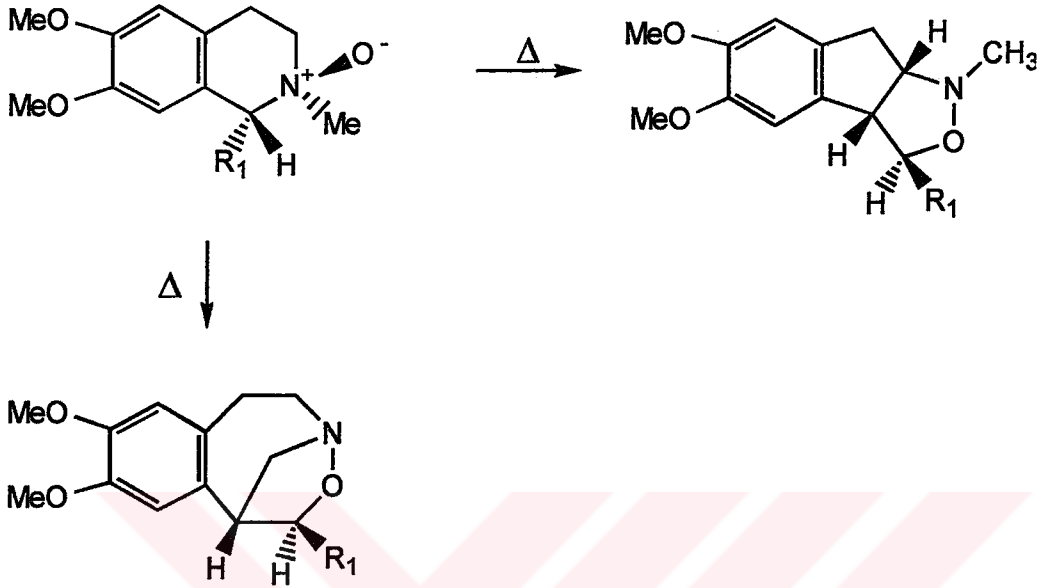


Bu tepkime olağan Hofmann degradasyonu ile elde edilemeyen bazı azotsuz bileşiklerin kazanılmasında kullanılmıştır (19).

Azota göre α -konumunda benzil taşıyan tersiyer amin oksitlerde görülen bir diğer tepkime, α -karbonun da siklizasyona dahil olmasıyla, hareket maddesi olan halkadan iki üye fazlasını taşıyan yeni bir heterosiklik halkanın oluşmasıdır (17, 20).



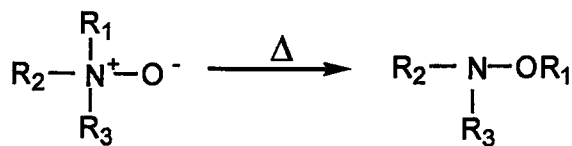
Bazı çalışmalarda ise tersiyer amin oksitlerin pirolizleri sırasında meydana gelen bazı intramoleküler düzenlemelerle yeni halka sistemlerinin ya da türevlerin kazanıldığı bildirilmiştir (17).



f. Çevrilme Tepkimeleri

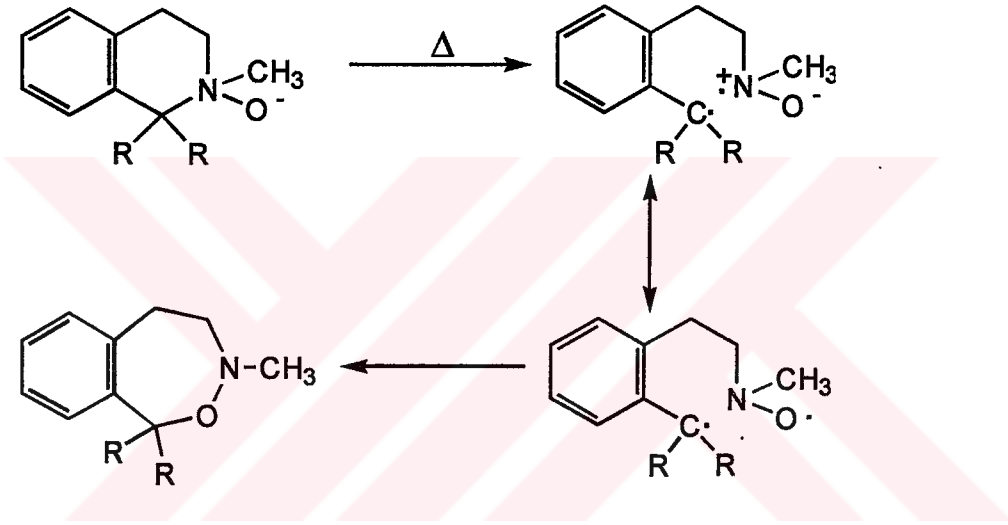
Meisenheimer Tepkimesi (21) adı ile bilinen bu reaksiyonun gerek mekanizması, gerekse uygulama imkanları konusunda oldukça fazla sayıda çalışma bulunmaktadır.

Aşağıdaki denklemlerle ifade edilen Meisenheimer tepkimesinde tersiyer amin oksit vakumda (14, 15, 17, 19, 22) ya da normal basınçta doğrudan doğruya ergitime tabi tutulabileceği gibi, geri çeviren soğutucu altında, susuz etannitril (22), susuz piridin (23, 24) veya dimetilasetamit (16) gibi çözücüler içinde de kaynatılabilir .



Göç eden R_1 grubu hemen daima alilik ya da benziliktir. R_2 ve R_3 alkil ya da aril olabilir. Ancak R gruplarından herhangi biri üzerinde bir β -hidrojen olması durumunda Cope eliminasyonunun da cereyan edeceği göz önünde tutulmalıdır.

Tepkimenin mekanizması, C_1 -N bağıının homolitik olarak kopması ile oluşan diradikalın, daha sonra C-O bağıını oluşturması şeklinde açıklanmıştır. Bu mekanizmanın siklik bir sistemde yürüyüşü aşağıda gösterilmiştir.

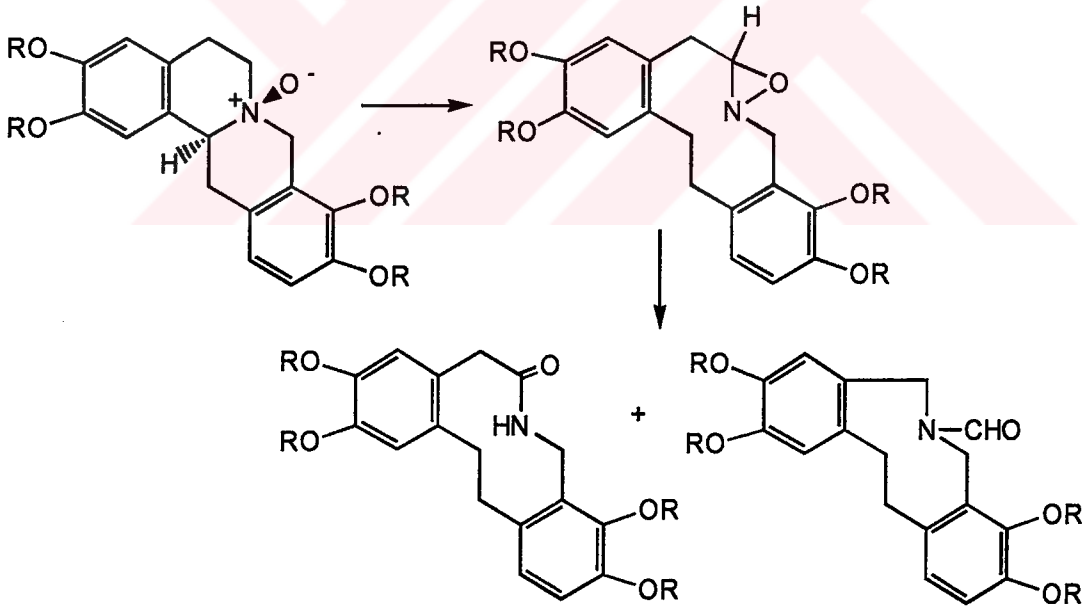


Meisenheimer tepkimesinin cereyan edebilmesi için gerekli hususların başında, azota göre α -konumunda bulunan karbon üzerinde bir aril sübstitüentin bulunması gelir. Bu sübstitüentin aril yerine benzil olması durumunda Meisenheimer ürününün verimi düşük olur; buna karşılık Cope eliminasyonu ve diğer bazı tepkimeler yürür (17, 20, 22).

Tepkime ile ilgili diğer bir kısıtlama azotun konumudur. Azotun köprü başı olduğu durumlarda Meisenheimer tepkimesinin cereyan edemediği görülmüştür (24).

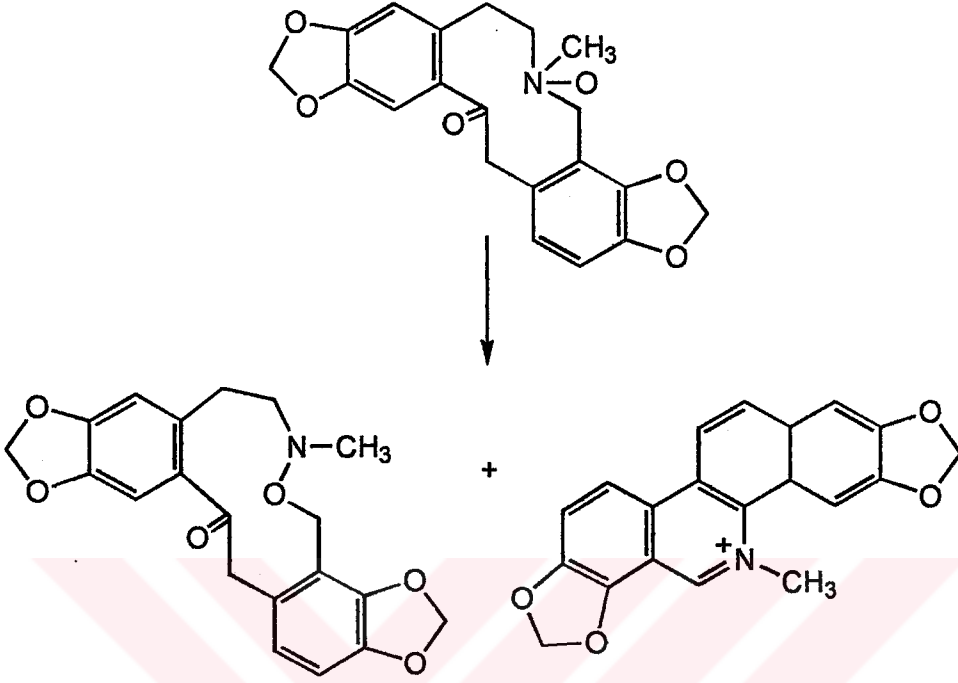
g. Fotoliz

Bazı alkaloid N-oksitlerin uygun şartlarda irradyasyonlarıyla değişik ürünlerin elde edildiği rapor edilmiştir. Örneğin bazı *trans*-tetrahidroprotoberberin N-oksitler, metanollü çözeltileri içinde, azot akımı altında üç saat süre ile ışın lambası yardımıyla radyasyona tabi tutulduğunda, oksaziridin ara ürünü aracılığı ile laktam ve formamit türevleri izole edilmiş, bir miktarda başlangıç maddesi geri kazanılmıştır (25). Bu yöntem, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve kolayca elde edilebilen tetrahidroprotoberberinlerden dibenzazonin, ya da dibenzazesinlerin elde edilmesi için pratik bir yöntem oluşturmaktadır (25).



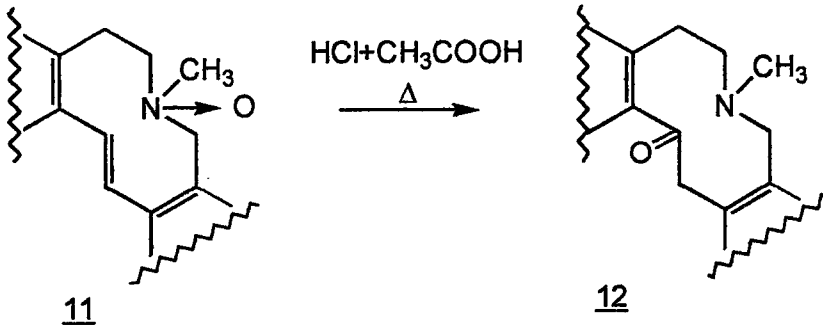
Doğal kaynaklardan izolasyonu gerçekleştirilmiş olan protopin N-oksitin metanollü çözeltisi içinde irradyasyonu, % 35 oranında hareket maddesinin

yanısıra, sözkonusu N-oksitin pirolizi sonucunda elde edilmiş olan dibenzoksazasikloundesin ve sanguinarin vermektedir (26).



h. Asitle Katalizlenen Oksijen Transferi

11 yapısındaki bir N-oksitin hidroklorik ve asetik asit karışımı ile ısıtılması sonucunda oksijen transferi ile **12** yapısına sahip bir bileşiğin elde edilmesi, protopin grubuna dahil alkaloidlerden pek çoğunun sentezi için uygun bir metod oluşturmaktadır (27).



4. Farmakoloji

Alkaloitlerin N-oksitleri, kendilerini veren tersiyer alkaloitlerin farmakodinamik ve terapötik özelliklerini büyük ölçüde muhafaza eder. Buna karşılık N-oksitlerinin toksisitelerinin tersiyer bazlarına kıyasla çok daha az olduğu saptanmıştır (28). Bu durum N-oksitlerin hayvan organizmasında büyük çapta redüksiyona maruz kaldığını, ancak redüksiyonun sadece özel bazı hücrelerle temas neticesinde meydana geldiğini düşündürmektedir.



C. YAPI TAYİNİNDE KULLANILAN ENSTRÜMENTAL YÖNTEMLER

Elektromanyetik ışımının madde ile etkileşmesi spektroskopinin esasını teşkil eder. Elektromanyetik ışımının organik moleküller tarafından soğurulması, molekülde bulunan atomların özelliklerine ve molekül içindeki düzenlenmelerine göre değişir.

Organik bileşiklerin yapı aydınlatılmasında sıklıkla yararlanılan spektroskopik yöntemler, spektrofotometrik (UV-VIS, IR) ve spektroskopik (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, kütle v.b.) yöntemler olarak sınıflandırılabilir.

UV-VIS (morötesi-görünür bölge) spektroskopisi, moleküllerin elektronik enerji düzeyleri arasındaki geçişleri inceler. UV-VIS spektrumundan sağlanan bilgilerle, moleküldeki kromoforun ve konjugasyonun türü ile derecesi hakkında fikir edinilebilir.

IR (kızılötesi) spektroskopisi ile, moleküldeki titreşim enerji düzeyleri arasındaki geçişler incelenir. Bu yöntem, organik moleküllerde bulunan işlevsel grupların nitelikleri hakkında bilgi sağlar.

Böylece, UV-VIS ve IR spektroskopileri kullanılarak, molekülde doymamışlık içeren sistemler (örn. çifte bağlar), aromatiklik, karbonil grupları ve diğer kromoforların bulunup bulunmadığı konusunda destekleyici kanıtlar elde edilebilir.

NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) spektroskopisi ile moleküldeki bazı çekirdeklerin spin enerji düzeyleri arasındaki geçişler incelenir. Bu yöntem, moleküllerdeki bazı çekirdeklerin elektromanyetik ışımının radyofrekans bölgesini soğurmaları esasına dayanır. Organik bileşiklerin yapılarının

aydınlatılmasında sıklıkla yararlanılan NMR deneylerinde, spin kuantum sayısı $\frac{1}{2}$ olan ^1H ve ^{13}C çekirdekleri kullanılır.

Tek boyutlu olağan NMR spektroskopisinde, sözkonusu çekirdeğin moleküldeki sayısı saptanabildiği gibi, kimyasal çevresinin ve komşu çekirdeklerle etkileşmelerinin değerlendirilmesiyle niteliği de belirlenebilir.

Günümüzde özel puls teknikleri kullanan 2D-NMR yöntemleri geliştirilmiştir. 2D-NMRda düzlemdeki eksenlerin ikisinde de kimyasal kayma veya birinde kimyasal kayma, diğerinde etkileşme sabitleri gösterilir. Böylece spektrum, sinyallerin şiddetinin üçüncü ekseninde verildiği üç boyutlu bir grafik haline dönüşür. Bu grafik sadece kimyasal kayma ve/veya etkileşme sabitlerinin verildiği iki boyutlu kontur grafiği şeklinde de kaydedilebilir.

2D-NMR spektrumlarının kaydı özel teknikler gerektirir ve yüksek manyetik alan şiddetinde çalışan özel spektrometrelere gereksinim vardır.

Burada organik bileşiklerin yapılarının aydınlatılmasında sıklıkla kullanılan bazı 2D-NMR deneylerinden sadece çalışmamızda yararlanmış olduklarımızdan kısaca bahsedilecektir.

COSY (correlation spectroscopy), 2D-NMR yöntemleri arasında en çok kullanılan ve güvenilen yöntemlerden olup, kimyasal kayma ve etkileşme bilgilerini kontur grafikleri olarak sağlar. Aynı tür çekirdeklerin kimyasal kaymalarının ve aralarındaki etkileşmelerin değerlendirildiği türüne homonükleer COSY, farklı çekirdeklerin kimyasal kaymalarının ve etkileşmelerinin kaydedildiği türüne ise heteronükleer COSY adı verilir.

Homonükleer COSY spektrumlarında ^1H kimyasal kaymaları ve ^1H - ^1H etkileşme bilgileri verilebileceği gibi, ^{13}C kimyasal kaymaları ve ^{13}C - ^{13}C eşleşme bilgisi de verilebilir. İkinci tür bilginin elde edilebileceği spektrumlar

günümüzde uygulanan özel teknik nedeni ile INADEQUATE olarak adlandırılır. Bu nedenle COSY terimi pratikte, sadece ^1H kimyasal kaymalarının ve ^1H - ^1H etkileşme bilgilerinin kaydedildiği spektrumlara aittir.

COSY spektrumları, özellikle karışık yapılı moleküllerde birbirleriyle etkileşen protonların bulunması için çok yararlıdır. Bu bilgiyi tek boyutlu bir NMR deneyinden de (spin decoupling deneyleri) almak mümkündür. Ancak bu durumda, bütün etkileşme olasılıklarının ortaya çıkarılması için ayrı ayrı etkileşmelerin önlenmesi deneylerinin yapılması gerekir. Kimyasal kaymaları yakın olan protonlara ait sinyallerden birinin ışınlanması diğerini de etkileyeceğinden, deney sonunda spinleri etkileşen protonları ayırdetmek zor olabilir.

COSY spektrumlarında bu tür kısıtlamalar yoktur. Köşegen üzerindeki konturların çapraz sinyallerle ilişkisi bulunarak etkileşmeler saptanır ve molekülün yapısı hakkında değerli bilgiler elde edilebilir.

Heteronükleer COSY (HETCOR) spektrumlarında ise, ^1H ve ^{13}C kimyasal kaymaları farklı eksenlerde kaydedilerek hidrojenlerle karbonların korelasyonlarının saptandığı spektrumlar elde edilir. HETCOR spektrumlarında $^1J_{\text{CH}}$, yani tek bağ aracılığı ile ^1H - ^{13}C etkileşmeleri gösterildiğinde, katerner karbonların haricindeki karbonları molekülde bulunan hidrojenlerle eşleştirmek mümkün olur.

J -Spektroskopisi tekniklerinden en çok uygulanan ^1H , ^{13}C - uzun alan etkileşme spektroskopisinde (^1H , ^{13}C long range correlation spectroscopy) protonların karbonlarla iki ($^2J_{\text{CH}}$) ya da üç ($^3J_{\text{CH}}$) bağ aracılığı etkileşmesi belirlenebilir. Bu NMR deneyi, özellikle katerner karbonların konumlarının

saptanabilmesi ve molekülün iskeletinin ortaya çıkması açısından son derece yararlı bilgiler sağlar (29 -31).

Double rezonans tekniklerinden bir diğeri olan NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy), birbirlerinden uygun uzaklıklarda bulunan çekirdeklerin uzaysal etkileşmeleri konusunda bilgi verir. Böylece, molekülün yapısı hakkında destekleyici veriler sağlanabildiği gibi, konformasyonel tercihi hakkında da değerli bilgiler edinilebilir. Ayrıca, dipol-dipol etkileşmesi iki çekirdek arasındaki mesafenin kübü ile ters orantılı olduğu için, iki çekirdek arasındaki uzaklığın kantitatif olarak saptanması da mümkün olur.

Kütle spektrometresiyle ise, madde yüksek enerjili (yaklaşık 70 eV veya $6000 \text{ kcal mol}^{-1}$) elektron demeti ile bombardıman edildiğinde oluşan pozitif iyonlar, kütle/yük oranlarına göre kaydedilir. Kütle spektrumu ile bileşiğin molekül ağırlığı hakkında bilgi edinilebildiği gibi, parçalanma ürünlerinin değerlendirilmesiyle de bileşiğin yapısı hakkında bilgi sahibi olunabilir ve aynı zamanda fonksiyonel grupların belirlenmesi de mümkün olabilir (31).

DENEYSEL BÖLÜM

A. MATERYAL

Sentez çalışmalarımızda başlangıç maddesi olarak kullanılan protopin, fakültemiz Farmasötik Kimya ve Farmakognozi Anabilim Dallarında Papaveraceae bitkileri (*Hypecoum* ve *Fumaria* türleri) üzerinde yapılan bazı fitokimyasal araştırmalar sırasında ekstraksiyonla elde edilmiş ve saflaştırılmıştır. Reaksiyonlar sırasında kullanılan tüm çözücüler *Merck* firmasından, oksidasyon tepkimesinde kullanılan *m*-kloroperbenzoik asit ise *Aldrich* firmasından temin edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan tüm reaktif, çözücü ve bileşikler analitik niteliktedir.

B. METODLAR

1. İnce Tabaka Kromatografisi (İ. T. K)

Bu yöntem, sentez çalışmalarında kimyasal tepkimelerin izlenmesi, ve tepkimeye giren başlangıç ürünlerinin ve oluşan bileşiklerin saflıklarının kontrol

edilmesinde kullanılmıştır. Bu çalışmalarda, silikajel 60 F₂₅₄ ile kaplanmış 0.25 mm kalınlıkta hazır kromatografi plakları (*Merck*) uygun boyutlarda kesilerek kullanılmıştır. İnce tabaka kromatografisi çalışmaları aksi belirtilmedikçe oda sıcaklığında yapılmış ve developman işlemi kromatografi tanklarının çözücü buharları ile doyurulmasından sonra gerçekleştirilmiştir. Bileşiklere ait lekelerin belirlenmesinde 254 nm ve 366 nm dalga boyundaki UV ışığından faydalanılmıştır. Ayrıca lekelerin tespitinde Dragendorff belirteci de kullanılmıştır.

Dragendorff Belirteci (32)

Çözelti A : 0.85 g bizmut nitratin 10 ml asetik asit ve 40 ml sudaki çözeltisi

Çözelti B : 8 g potasyum iyodürün 20 ml sudaki çözeltisi

Kullanımdan önce A ve B çözeltilerinden eşit hacimde karıştırılmış ve bu karışımın 1 ml sine 2 ml glasiyel asetik asit ve 10 ml su ilave edilerek kullanılmıştır.

2. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Bu yöntem, kimyasal tepkimeler sonucunda elde edilen ham ürünlerin saflaştırılmasında uygulanmıştır. Bunun için silikajel GF₂₅₄ ile 0.5 mm kalınlığında kaplanmış 20x20 cm boyutlarında cam plaklar kullanılmıştır. Çözücü sistemleri olarak önceden belirlenen ve İ.T.K. nde en iyi sonuç alınan sistemler kullanılmıştır. Developman işleminden sonra ayrılan bantlar, 254 nm

ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışığı altında işaretlenmiştir. Ayrıca plak boyunca çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtülerek, olumlu yanıt veren bantlar belirlenmiştir. İşaretlenen bu bantlar plaktan kazınarak alındıktan sonra kloroform:metanol (8:2) karışımı ile elüe edilmiştir. Çözücünün rotavaporda alçak basınçta distillenmesiyle ürünler elde edilmiştir.

3. Spektral Analizler

Sentez çalışmalarında elde edilen ürünlerin yapıları UV, IR, NMR (^1H , ^{13}C ve 2D NMR), EI-Kütle spektrumu yöntemlerinin kullanılması ile aydınlatılmıştır.

UV Spektrumları: Metanoldeki çözeltileri içerisinde Shimadzu 160-A Spektrofotometresinde alındı.

IR Spektrumları: KBr pelletleri halinde Perkin-Elmer 297 Infrared Spektrometresinde alındı.

EI Kütle Spektrumları: Finnigan-Mat SSQ 700 Spektrometresinde alındı.

NMR Spektrumları: ^1H , ^{13}C ve 2D-NMR Spektrumları, Bruker AMX-600 Spektrometresinde alındı.

4. Kimyasal Tepkimeler

a. Protopinden Protopin N-Oksit Sentezi:

204.4 mg (1.19 mmol) *m*-kloroperbenzoik asit 10 ml kloroformda çözüldü. Bu çözelti 0-4⁰ C deki bir buz banyosunun içine daldırıldı ve manyetik karıştırıcı ile 15 dakika karıştırıldı.

254 mg (0.72 mmol) protopin 10 ml kloroform içinde çözüldü ve çözelti buzlu suda soğutuldu. Ardından manyetik karıştırıcı ile karıştırılmak suretiyle *m*-kloroperbenzoik asit çözeltisi ayırma hunisi yardımıyla 60 dakikada damla damla ilave edildi. Soğutma ve karıştırma işleminin tamamlanmasından sonra tepkimenin tamamlandığı I.T.K. kontrolleri ile belirlendi ve tepkime kabı ağzı kapatılarak bir gece boyunca buzdolabında bekletildi.

Kloroformlu çözelti 10 ar ml lik porsiyonlar halinde toplam 40 ml %5 lik Na₂CO₃ çözeltisi ile yıkandı. Sulu faz, kloroformlu fazdan ayrılarak bir gece oda temperaturünde bekletildi. Oluşan çökelti süzülerek alındı ve distile su ile yıkandı. Bir sonraki basamağa kromatografik olarak yeterli saflıkta olduğu görülen bu ham ürün (224.6 mg, %84.6) ile geçildi.

b. Protopin N-Oksitin Pirolizi

200 mg (0.54 mmol) protopin N-oksit piroliz amacıyla kullanılan mikrosüblimasyon aletinde, alçak basınç altında 180⁰ C ye ısıtılmış kum banyosu üzerinde 20 dakika süre ile piroliz işlemine tabi tutuldu. Piroliz

tamamlandıktan sonra mikosüblimasyon aletinin soğutucu yüzeyinde biriken beyaz renkli ürün ile dibinde toplanan sarı renkli ürün kloroform ile çözülerek ayrı kaplarda toplandı. İ.T.K. kontrolleri, bu iki ürünün aynı komponentleri içerdiğini ortaya koydu. Bu nedenle bu iki kısım birleştirildi. Çözücünün distilasyonundan sonra elde edilen 141.6 mg ürün üzerinde yapılan İ.T.K. çalışmaları, karışımda Dragendorf belirtecine olumlu yanıt veren ve çalışmaya yeterli miktarda olabileceği düşünülen 3 ana lekenin olduğunu gösterdi. Karışımın komponentleri, preparatif İ.T.K. ile çözücü sistemi olarak benzen:kloroform:aseton (40:40:10) (tank NH₃ buharları ile doyurulmuştur) kullanmak suretiyle birbirlerinden ayrıldı. Elde edilen bu ürünlere SA-B, SA-C ve SA-7 (5.4 mg, 35.2 mg ve 24.6 mg) kodları verilmiştir.

c. SA-B Bileşiğinin Asetilasyonu

SA-B bileşiğinde var olduğu düşünülen fenol grubunun ispatı amacı ile bileşiğin asetilasyonu gerçekleştirilmiştir. Bunun için;

3.5 mg SA-B bileşiği yuvarlak tabanlı bir balon içerisinde 1 ml asetik anhidrit ve 3 damla piridin ile muamele edilmiş ve ağzı kapalı halde bir gece oda temperaturünde bekletilmiştir.

Piridin ve asetik anhidritin fazlası azot akımı altında uçurulmuş, %93 verimle 3.25 mg Asetil SA-B kodlu ürün elde edilmiştir.

5. Spektral Bulgular

a. SA-7 Bileşiminin Spektral Bulguları

UV (Spektrum No 1)

MeOH

λ_{maks} (log ϵ) 211 (4.45), 300 (3.81), 397 (1.67) nm.

EI (Spektrum No 2)

m/z (%) 369 (35), 352 (26), 309 (100), 281 (25), 267 (52), 252 (24), 206 (29), 148 (21), 60 (29).

IR (Spektrum No 3)

CHCl_3

ν_{maks} 2992, 2958, 2987, 1689, 1612, 1500, 1483, 1453, 1410, 1379, 1335, 1305, 1255, 1157, 1126 cm^{-1} .

^1H NMR (Spektrum No 4)

CDCl_3

δ	2.58 (3H, s, N-CH ₃)	4.80 (1H, <i>br s</i> , H-9)
	2.81 (1H, <i>br s</i> , H-5)	5.95 (2H, s, -OCH ₂ O)
	2.83 (1H, <i>br s</i> , H-6)	5.98 (2H, s, -OCH ₂ O)
	2.93 (1H, <i>br s</i> , H-6)	6.73 (1H, s, H-4)
	3.39 (1H, <i>br s</i> , H-5)	6.78 (1H, <i>d</i> , $J=7.9$, H-12)
	3.98 (1H, <i>br s</i> , H-14)	6.81 (1H, <i>d</i> , $J=7.9$, H-13)
	4.24 (1H, <i>br s</i> , H-9)	6.95 (1H, s, H-1)
	4.28 (1H, <i>br s</i> , H-14)	

^{13}C NMR (Spektrum No 5) **CDCl_3**

δ 28.4 (t), 45.0 (q), 46.7 (t), 62.2 (t), 64.6 (t), 101.3 (t), 101.4 (t), 106.5 (d), 108.3 (d), 110.1 (d), 115.9 (s), 124.6 (d), 129.8 (s), 134.2 (s), 135.2 (s), 145.2 (s), 146.4 (s), 147.5 (s), 149.2 (s), 202.4 (s).

 ^{13}C NMR-DEPT (Spektrum No 6) **^1H , ^1H DQF-COSY (Spektrum No 7) (Tablo 1)** **^1H , ^{13}C HSQC (Spektrum No 8) (Tablo 1)****TOCSY (Spektrum No 9) (Tablo 1)** **^1H , ^{13}C HMBC (Spektrum No 10) (Tablo 1)**

	¹ H-NMR	¹ H- ¹ H DQF-COSY	TOCSY	HSQC	HMBC
H-1	6.95			106.6	28.4, 110.1, 135.2, 145.2, 149.2, 202.4,
H-4	6.73			110.1	28.4, 106.6, 134.2, 145.2, 149.2, 202.4
H-5	2.81	3.39	3.39	28.4	
	3.39	2.81	2.81		
H-6	2.83	2.93	2.93	62.2	
	2.93	2.83	2.83		
H-9	4.24	4.80	4.80	64.6	
	4.80	4.24	4.24		
H-12	6.78	4.24	6.81	108.3	46.7, 115.9, 124.6, 129.8, 146.4, 147.5,
H-13	6.81	6.78	6.78	124.6	46.7, 115.9, 129.8, 146.4, 147.5, 202.4
H-14	3.98	4.28	4.28	46.7	
	4.28	3.98	3.98		
OCH ₂ O	5.95			101.3	28.4, 62.2, 64.6
OCH ₂ O	5.98			101.4	
N-CH ₃	2.58			45.0	

Tablo 1- SA-7 Bileşinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

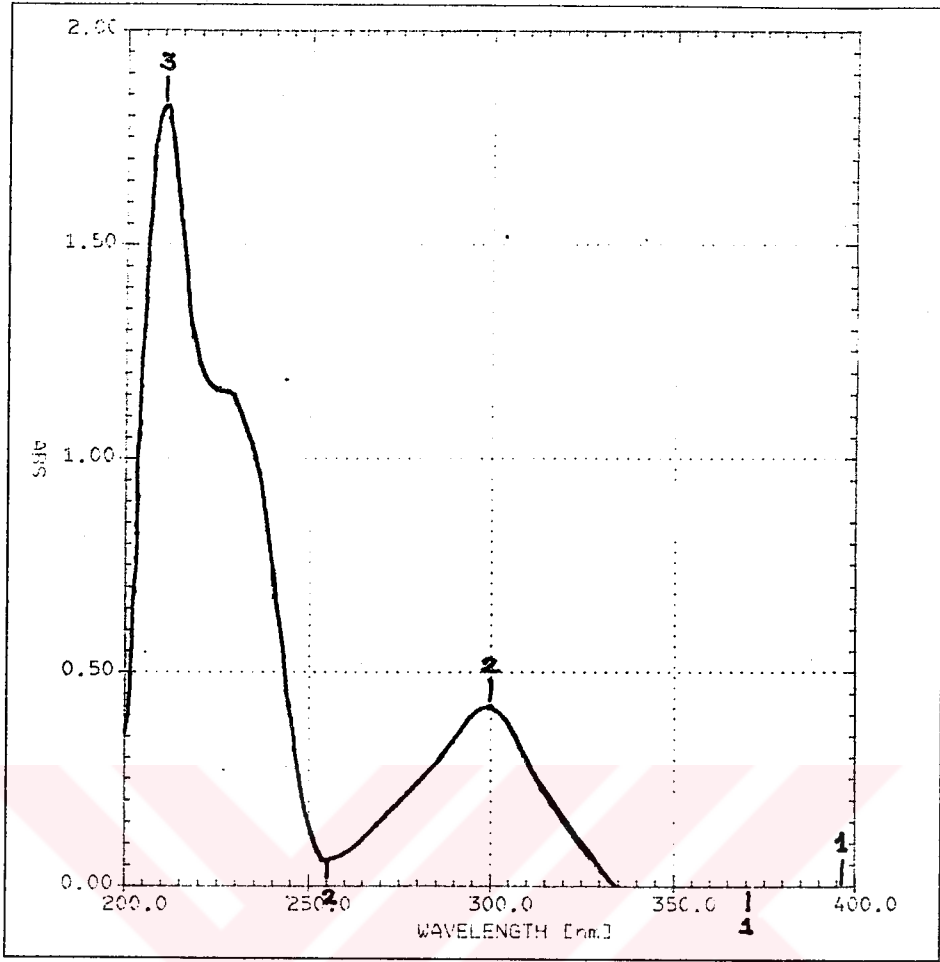
¹H-NMR (Spektrum No 11)**Benzen-D₆**

δ 6.75 (1H, s)
6.60 (1H, d, $J= 7.9$ Hz)
6.51 (1H, d, $J= 7.9$ Hz)
6.44 (1H, s)
5.24 (2H, s)
5.22 (2H, s)
2.36 (3H, s)

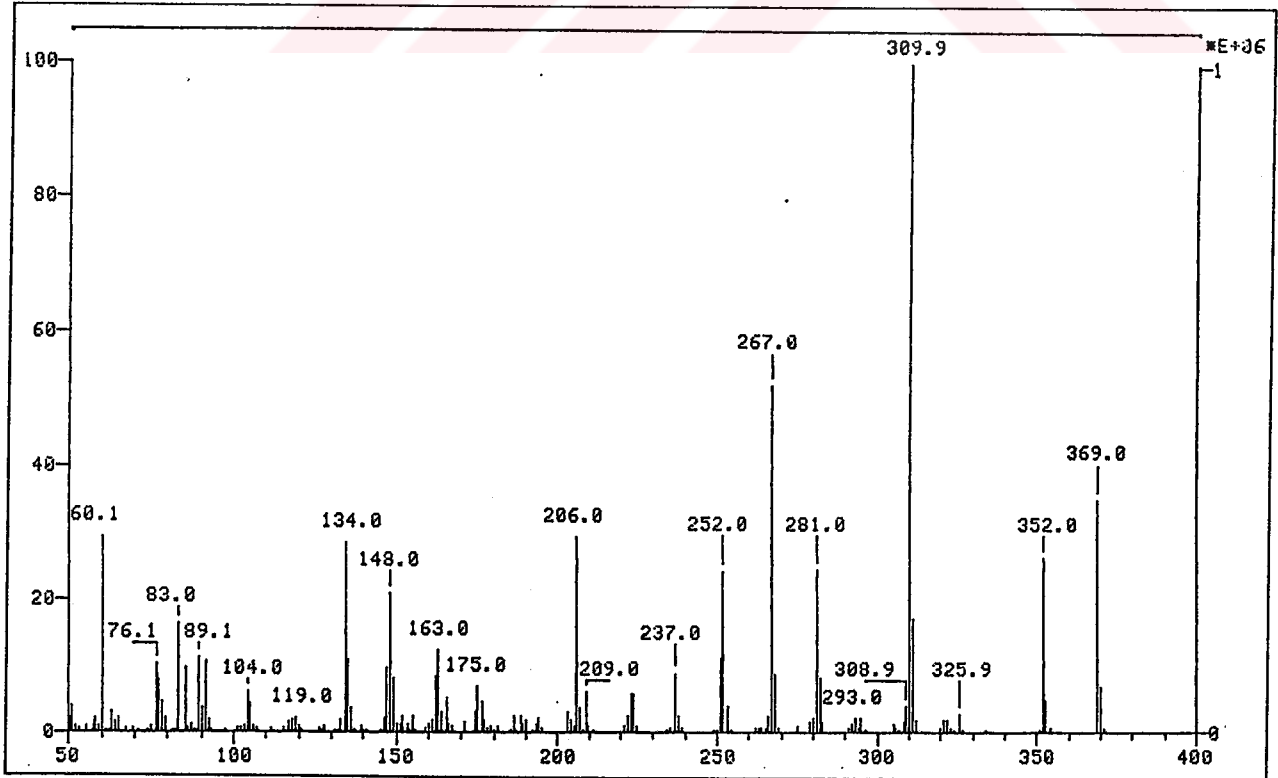
¹³C-NMR (Spektrum No 12)**Benzen-D₆**

δ 29.3 (t), 44.5 (q), 47.1 (d), 62.2 (t), 64.5 (t), 100.8 (t), 100.9 (t), 107.0 (d), 108.0 (d), 110.3 (d), 117.3 (s), 124.8 (d), 130.3 (s), 134.7 (s), 136.5 (s), 145.1 (s), 146.6 (s), 147.9 (s), 149.0 (s), 200.8 (s)

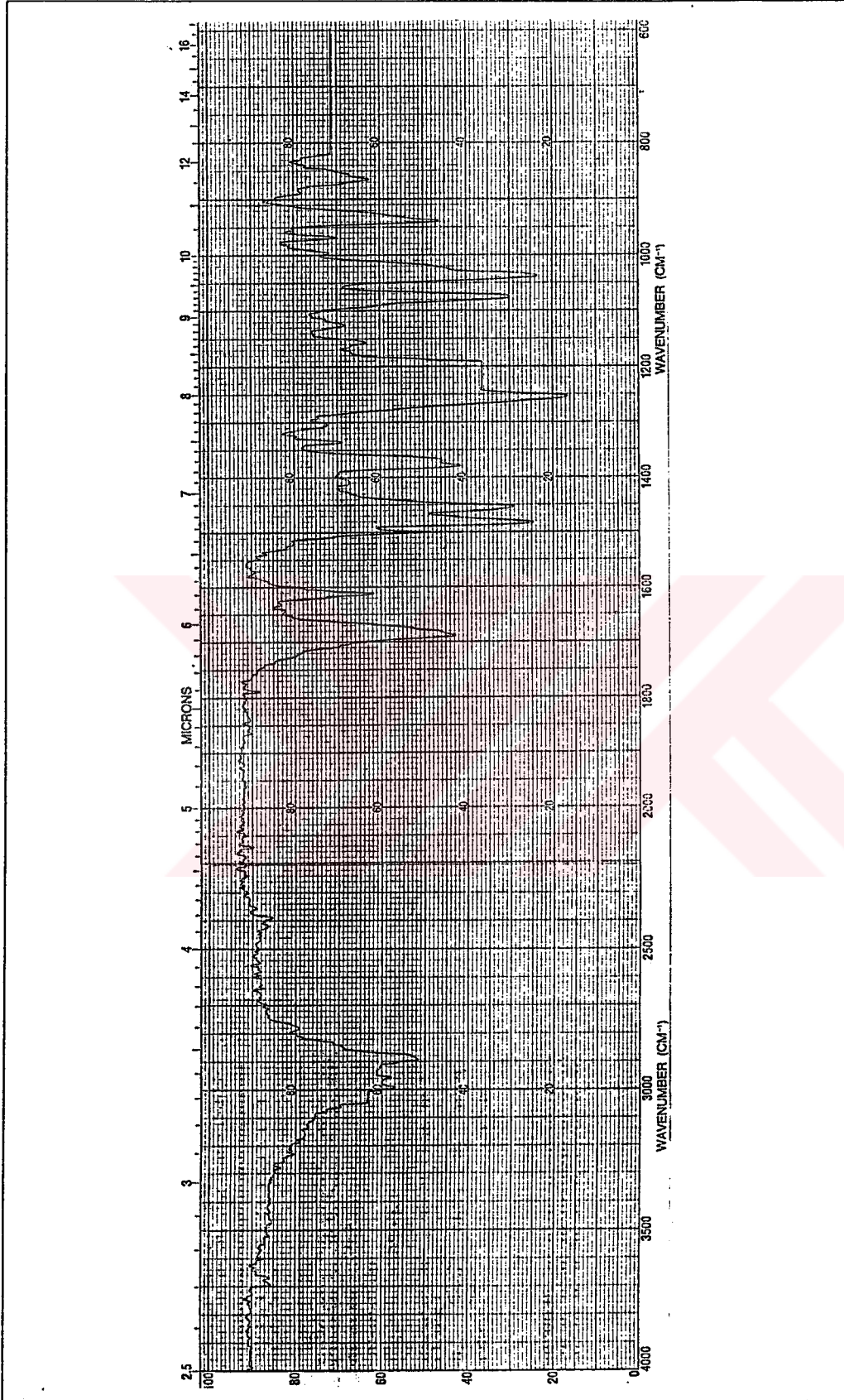
¹³C-NMR DEPT (Spektrum No 13)**Benzen-D₆**



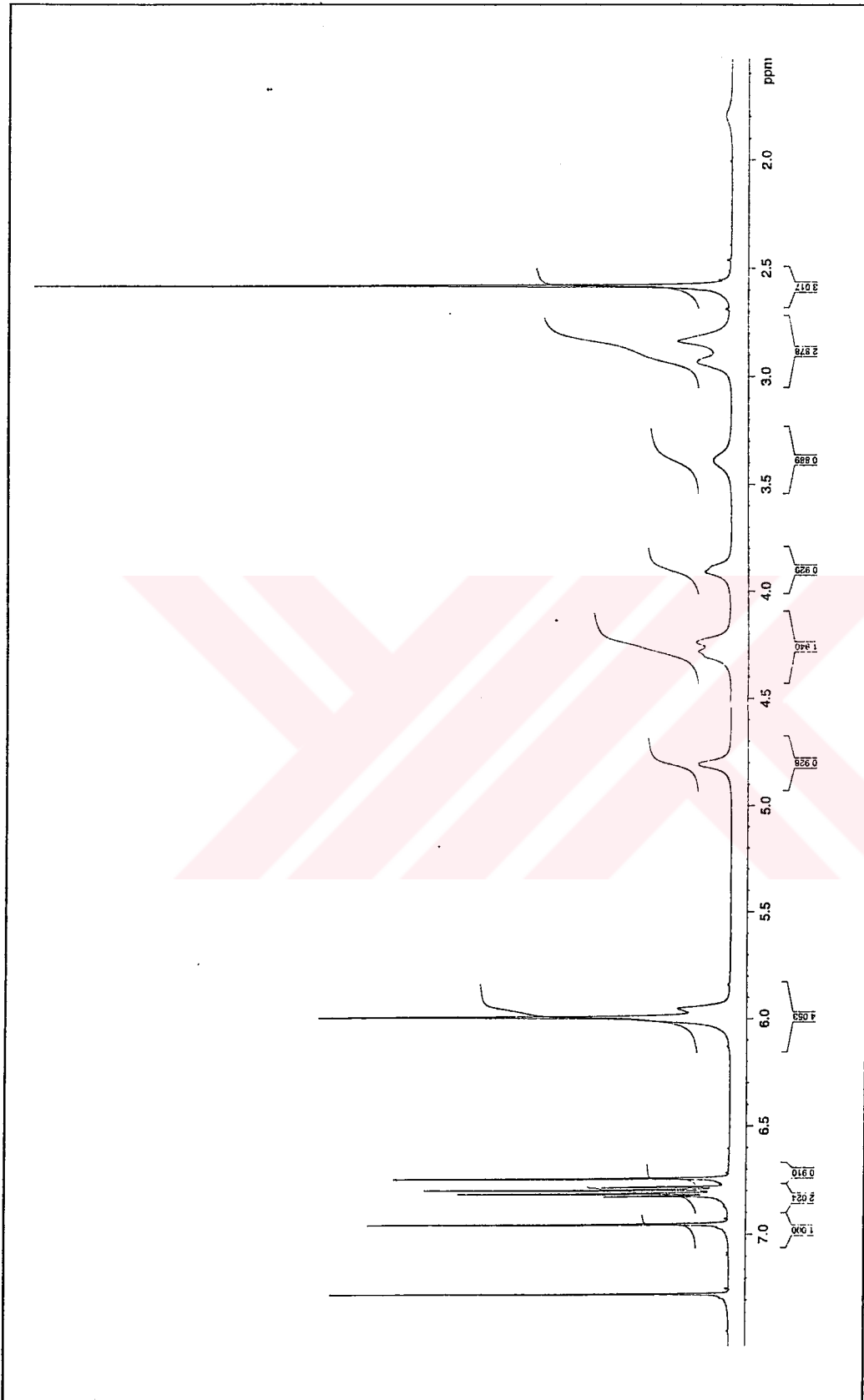
Spektrum No 1. SA-7 Bileşğinin UV Spektrumu

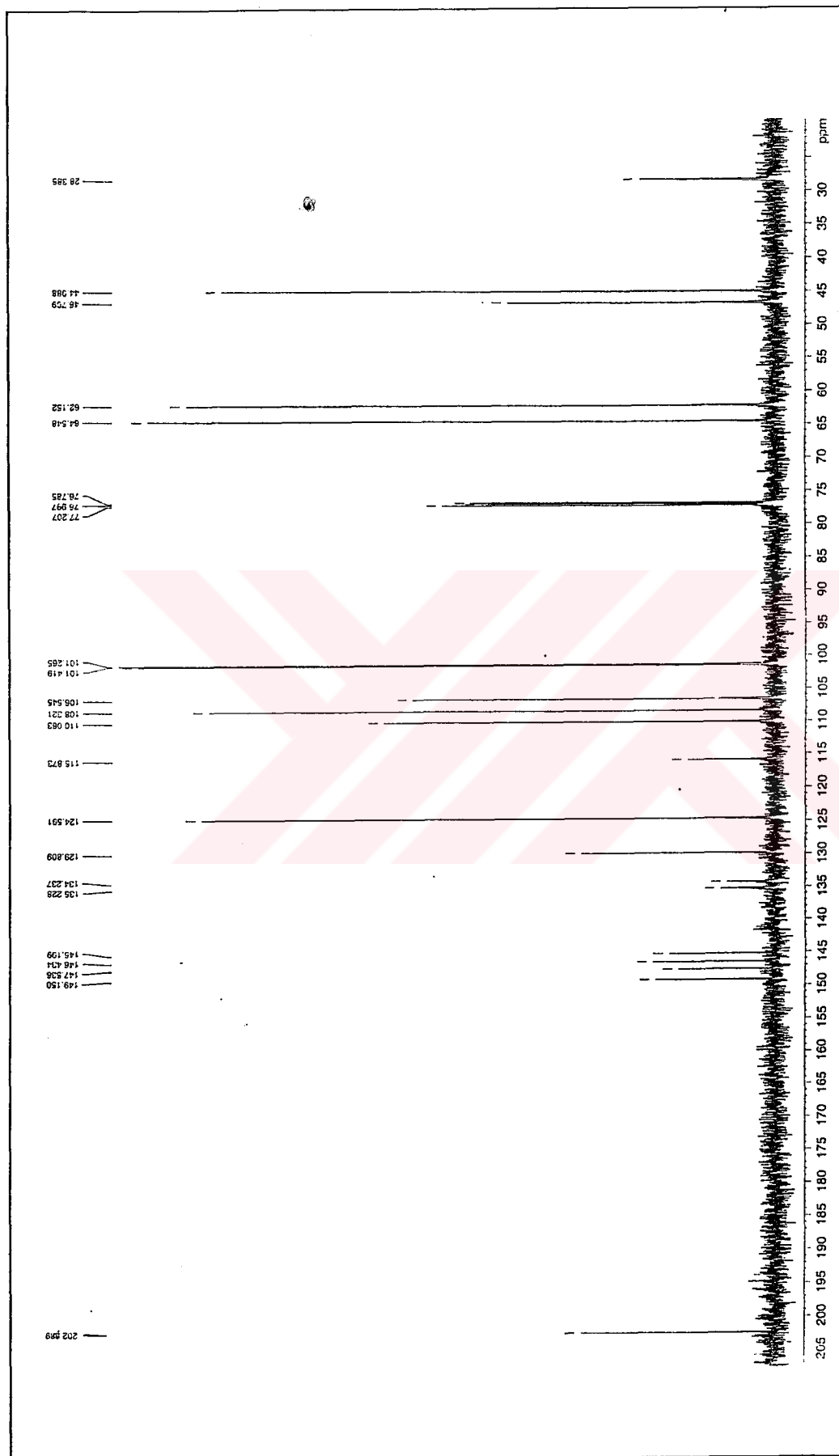


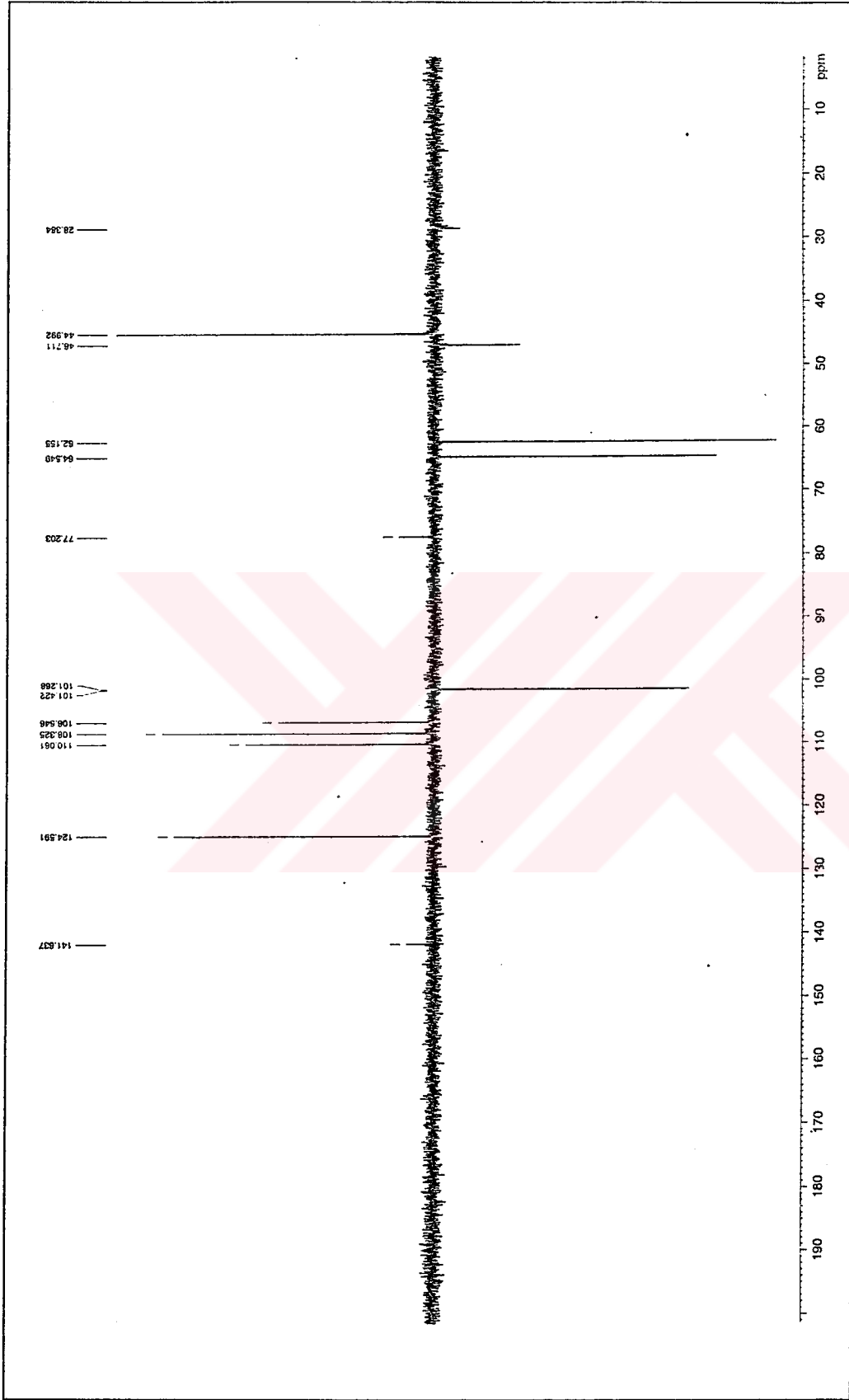
Spektrum No 2. SA-7 Bileşğinin EI Kütle Spektrumu

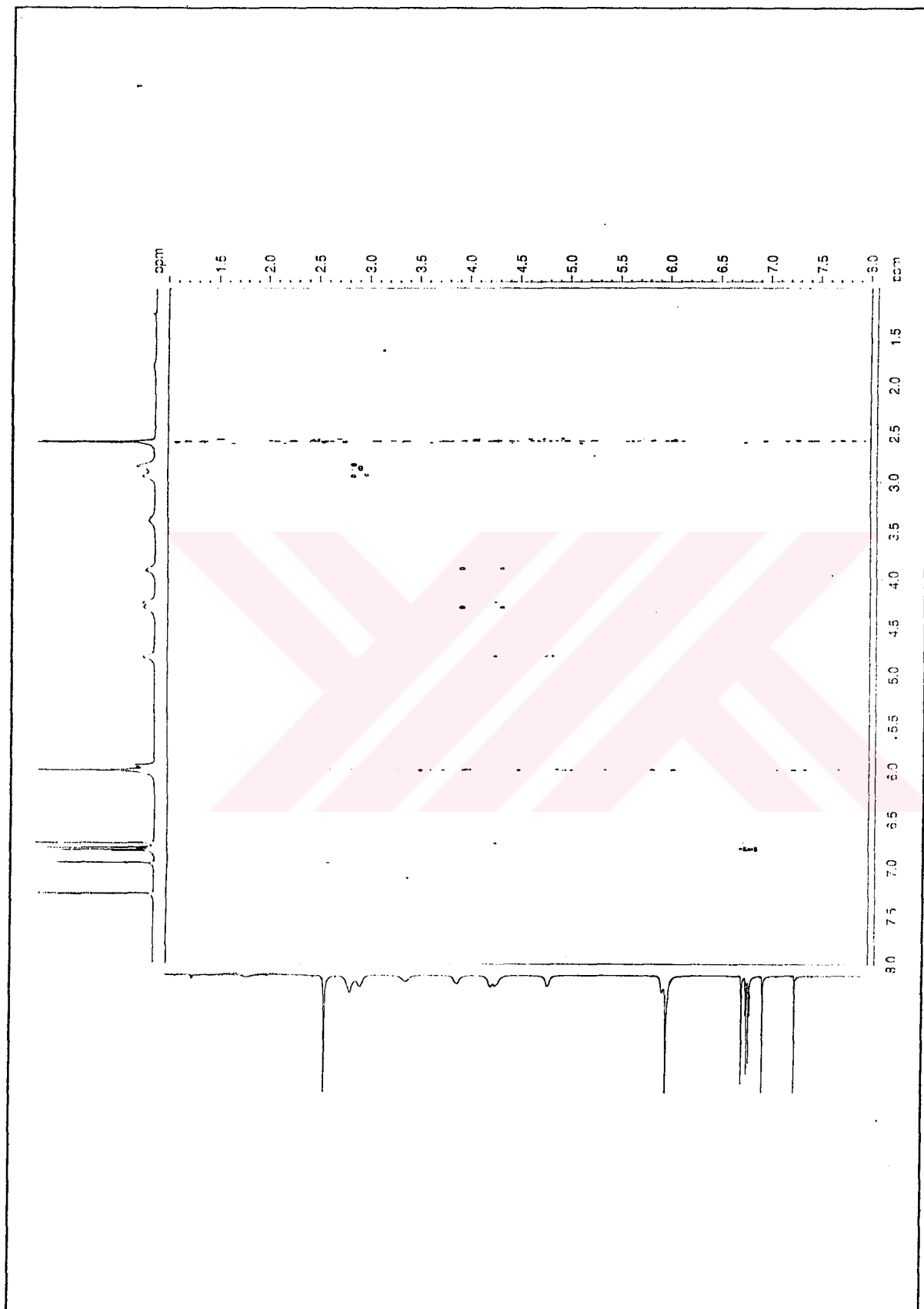


Spektrum No 3. SA-7 Bileşinin IR Spektrumu

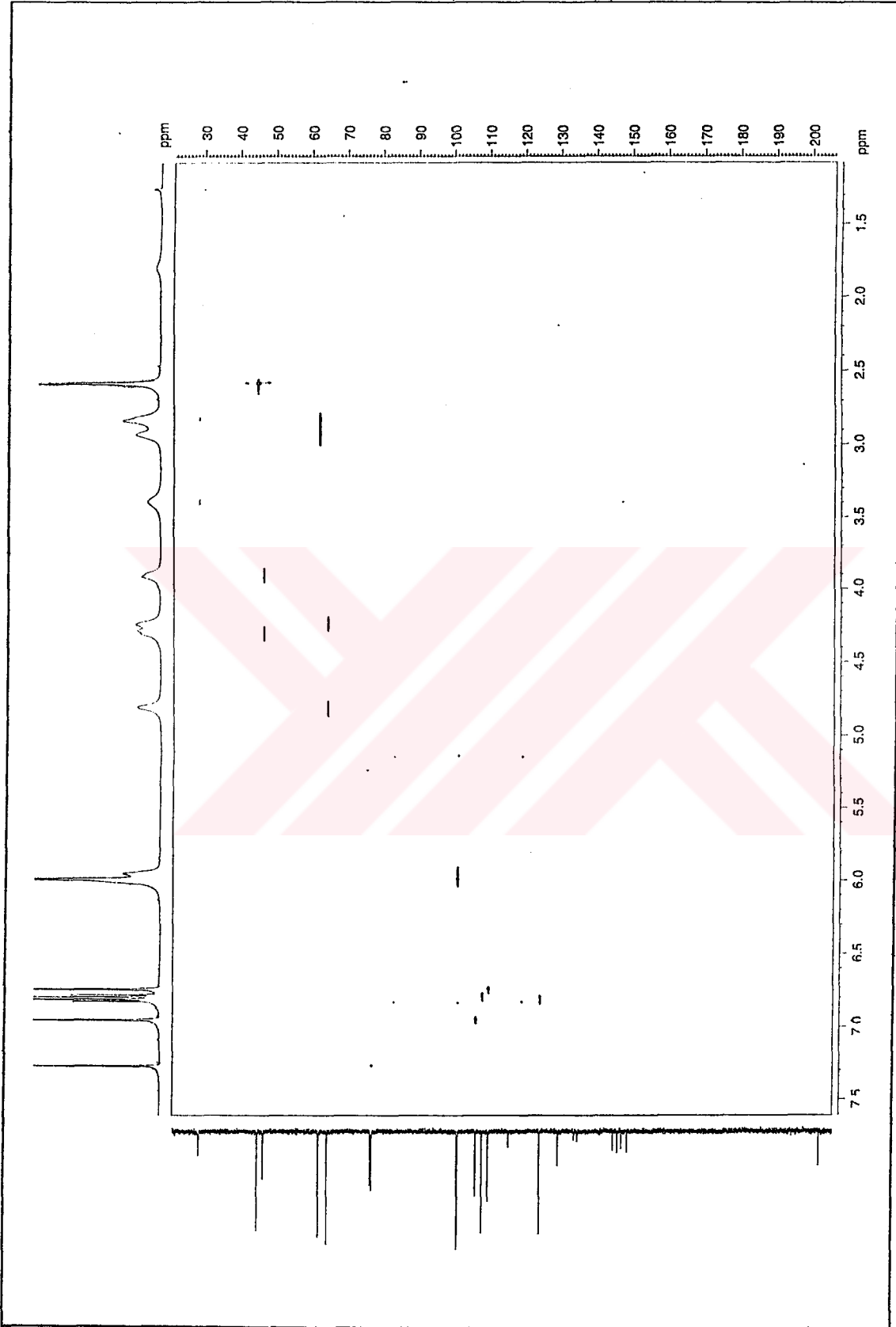
Spektrum No 4. SA-7 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum No 5. SA-7 Bileşğinin ¹³C NMR Spektrumu

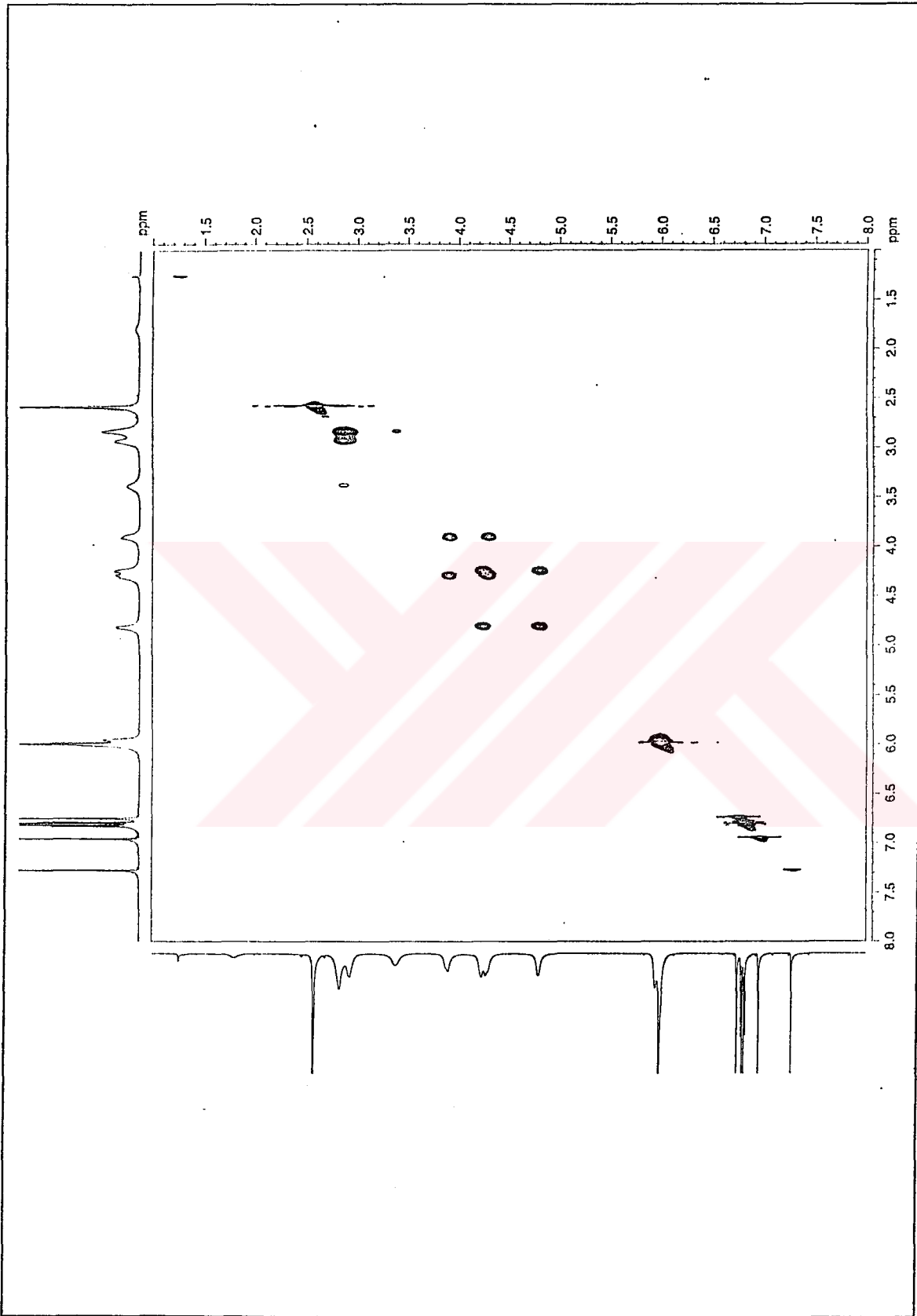
Spektrum No 6. SA-7 Bileşinin ^{13}C NMR-DEPT Spektrumu



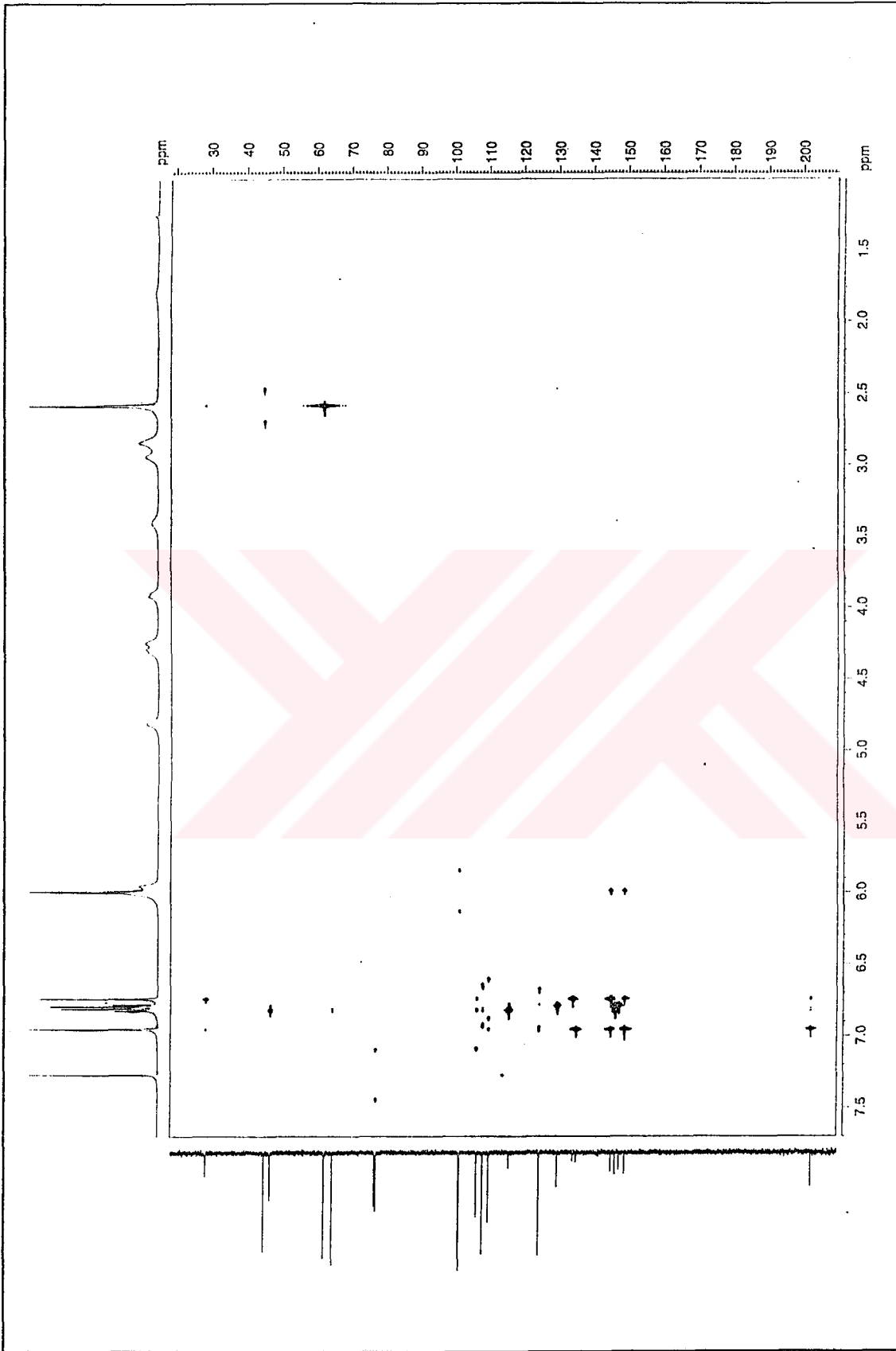
Spektrum No 7. SA-7 Bileşinin ^1H , ^1H DQF-COSY Spektrumu

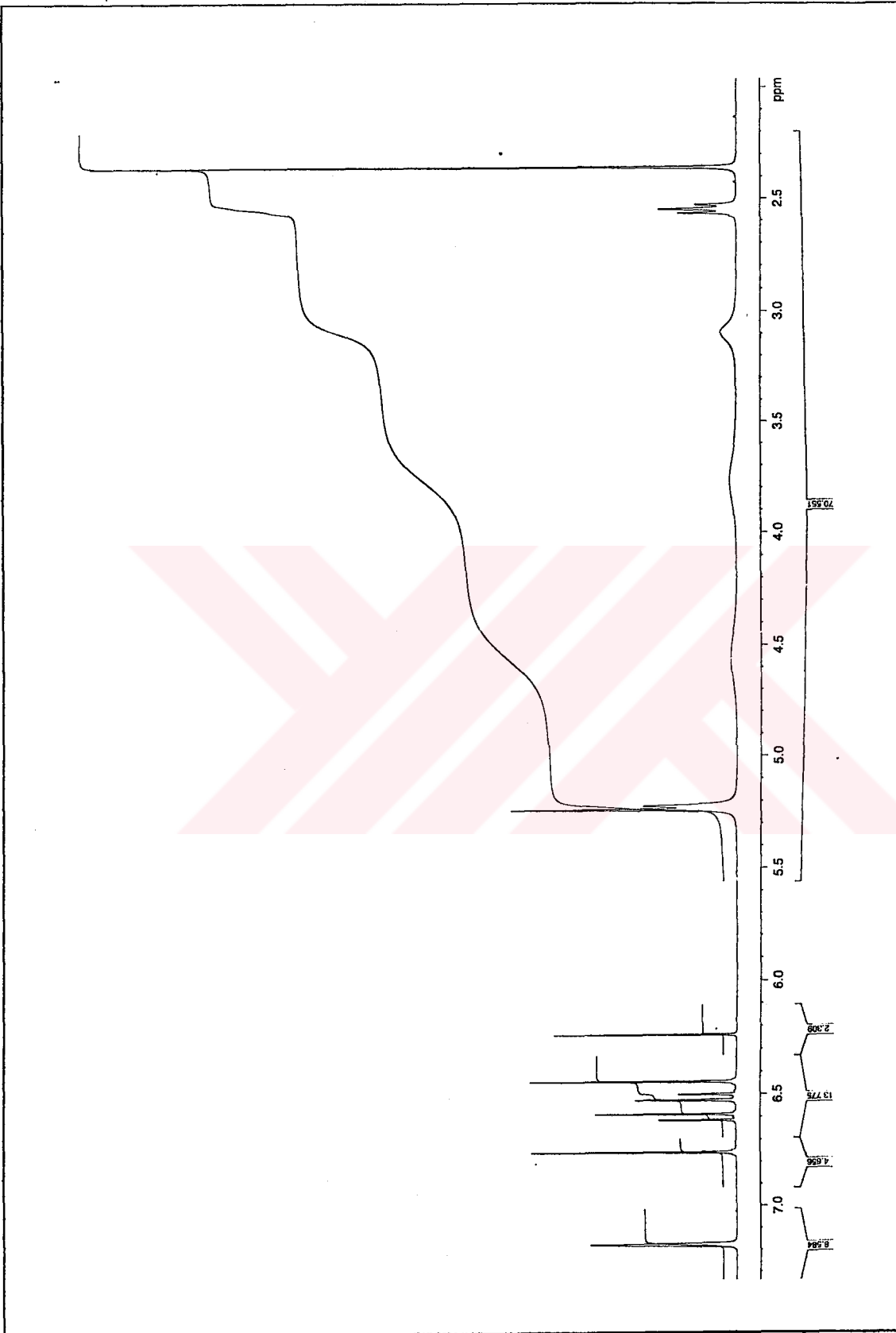


Spektrum No 8. SA-7 Bileşğinin ^1H , ^{13}C HSQC Spektrumu

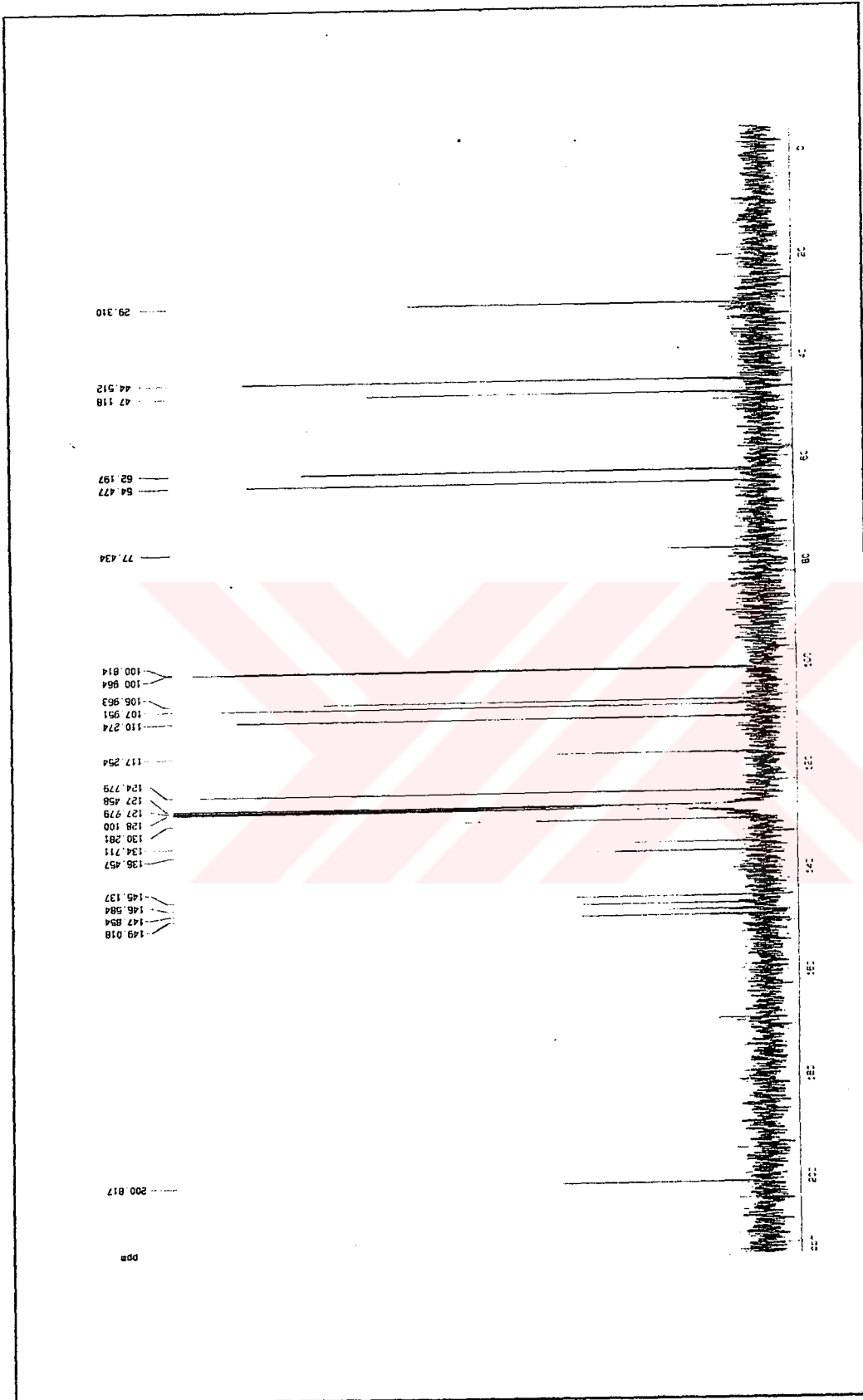


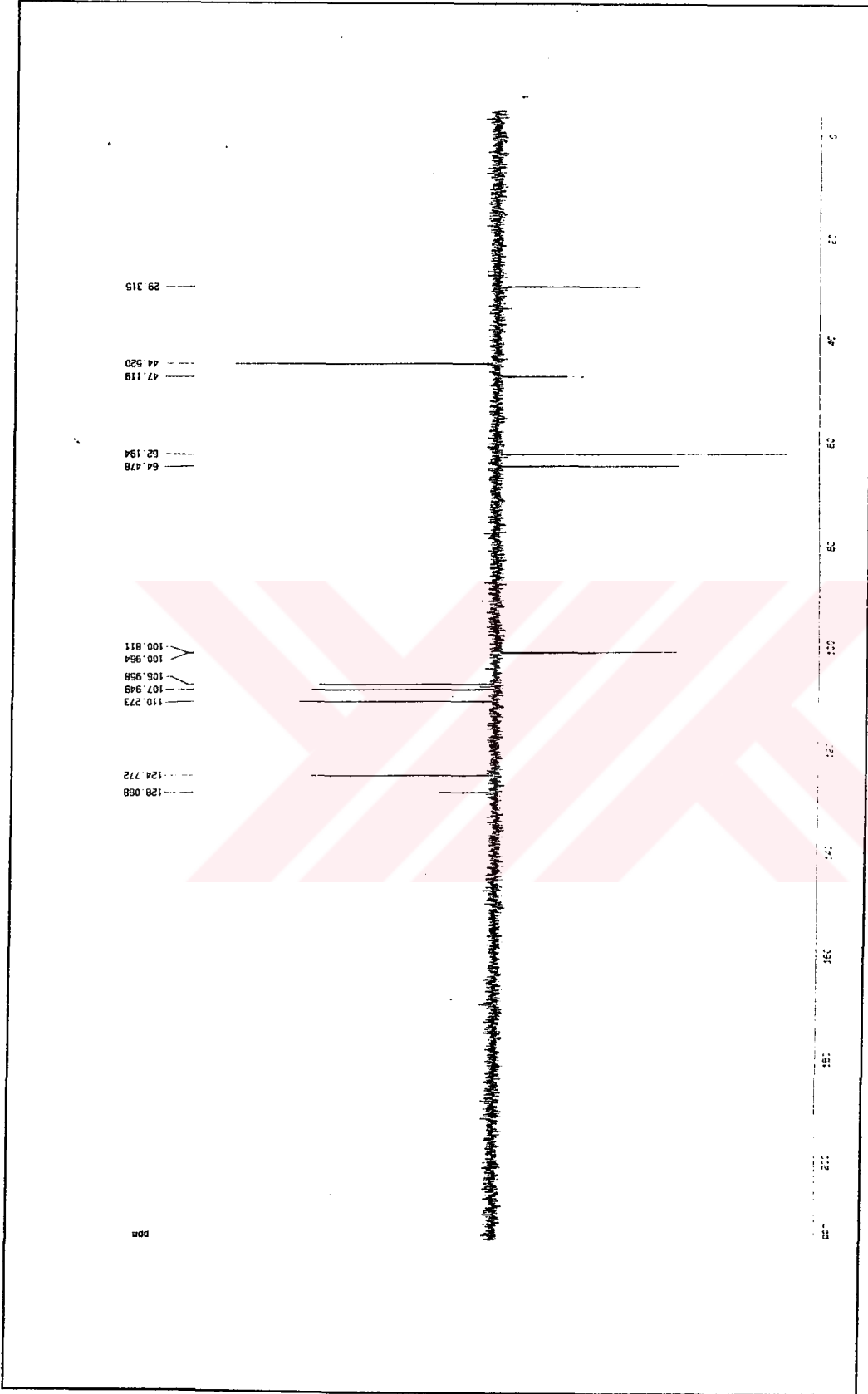
Spektrum No 9. SA-7 Bileşğinin TOCSY Spektrumu

Spektrum No 10. SA-7 Bileşininin ^1H , ^{13}C HMBC Spektrumu



Spektrum No 11. SA-7 Bileşinin ^1H NMR (Benzen- D_6) Spektrumu

Spektrum No 12. SA-7 Bileşğinin ¹³C NMR (Benzen D₆) Spektrumu



Spektrum No 13. SA-7 Bileşinin 13C NMR-DEPT Spektrumu

b. SA-B Bileşiminin Spektral Bulguları

UV (Spektrum No 14)

MeOH

 λ_{maks} (log ϵ) 225 (3.59), 257 (3.57), 285 (2.99) nm.

IR (Spektrum No 15)

 CHCl_3 ν_{maks} 3535, 2890, 1615, 1500, 1452, 1410, 1363, 1332, 1287, 1248, 1161, 1145, 1109 cm^{-1} .

ESI

 m/z (%) 676 (22), 662 (20), 618 (22), 574 (28), 530 (36), 485 (38), 442 (26), 430 (57), 414 (50), 361 (20), 354 (26), 339 (100), 331 (37), 323 (35), 283 (39), 255 (25). ^1H NMR (Spektrum No 16) CDCl_3

δ 2.03 (3H, s, Ar- CH_3)
5.28 (1H, s, Ar-OH)
6.04 (2H, s, $-\text{OCH}_2\text{O}$)
6.05 (2H, s, $-\text{OCH}_2\text{O}$)
6.79 (1H, d, $J=7.9$, H-5')
6.81 (1H, d, $J=7.9$, H-6')
7.03 (1H, d, $J=8.3$, H-3)
7.11 (1H, s, H-5)
7.26 (1H, d, $J=6.7$, H-4)
7.54 (1H, s, H-8)

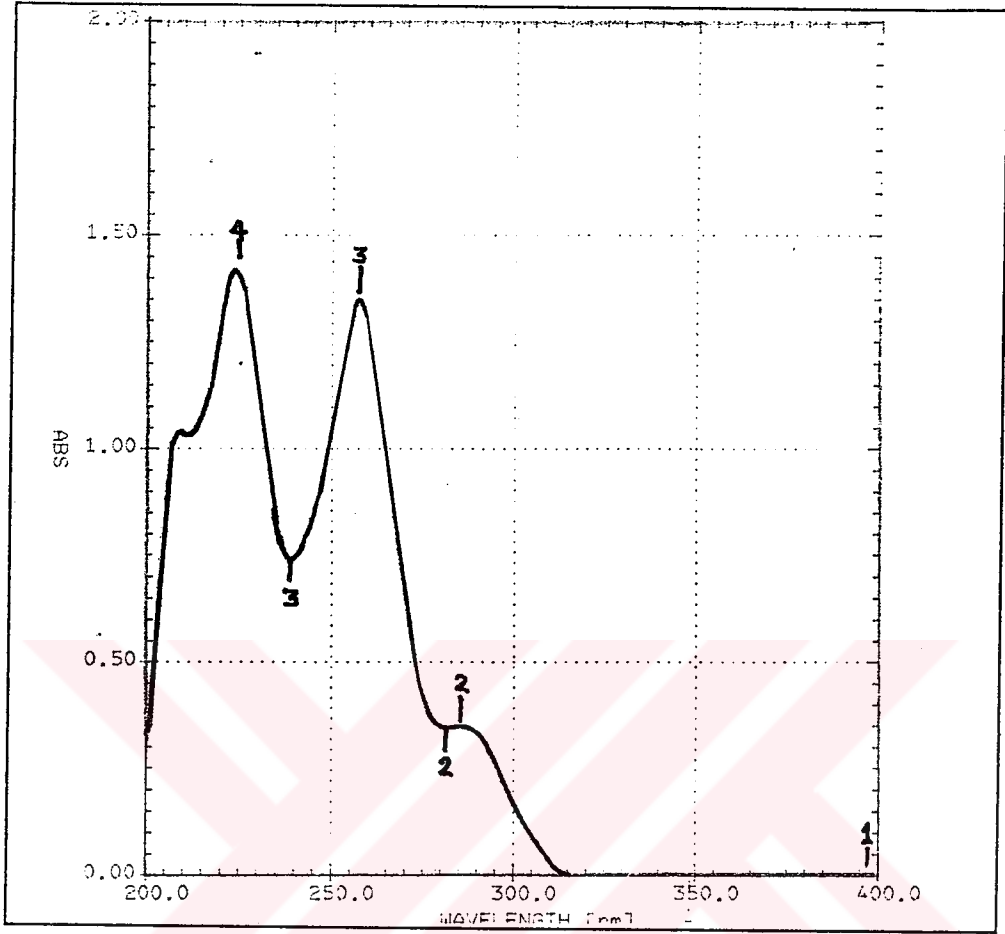
^{13}C NMR (Spektrum No 17) **CDCl_3**

δ 12.5 (q), 99.1 (d), 101.0 (t), 101.1 (t), 103.7 (d), 106.5 (t), 118.8 (t), 119.1 (s), 119.4 (s), 120.3 (s), 123.7 (t), 126.5 (t), 130.0 (s), 131.4 (s), 146.9 (s), 147.0 (s), 147.3 (s), 147.8 (s), 148.0 (s).

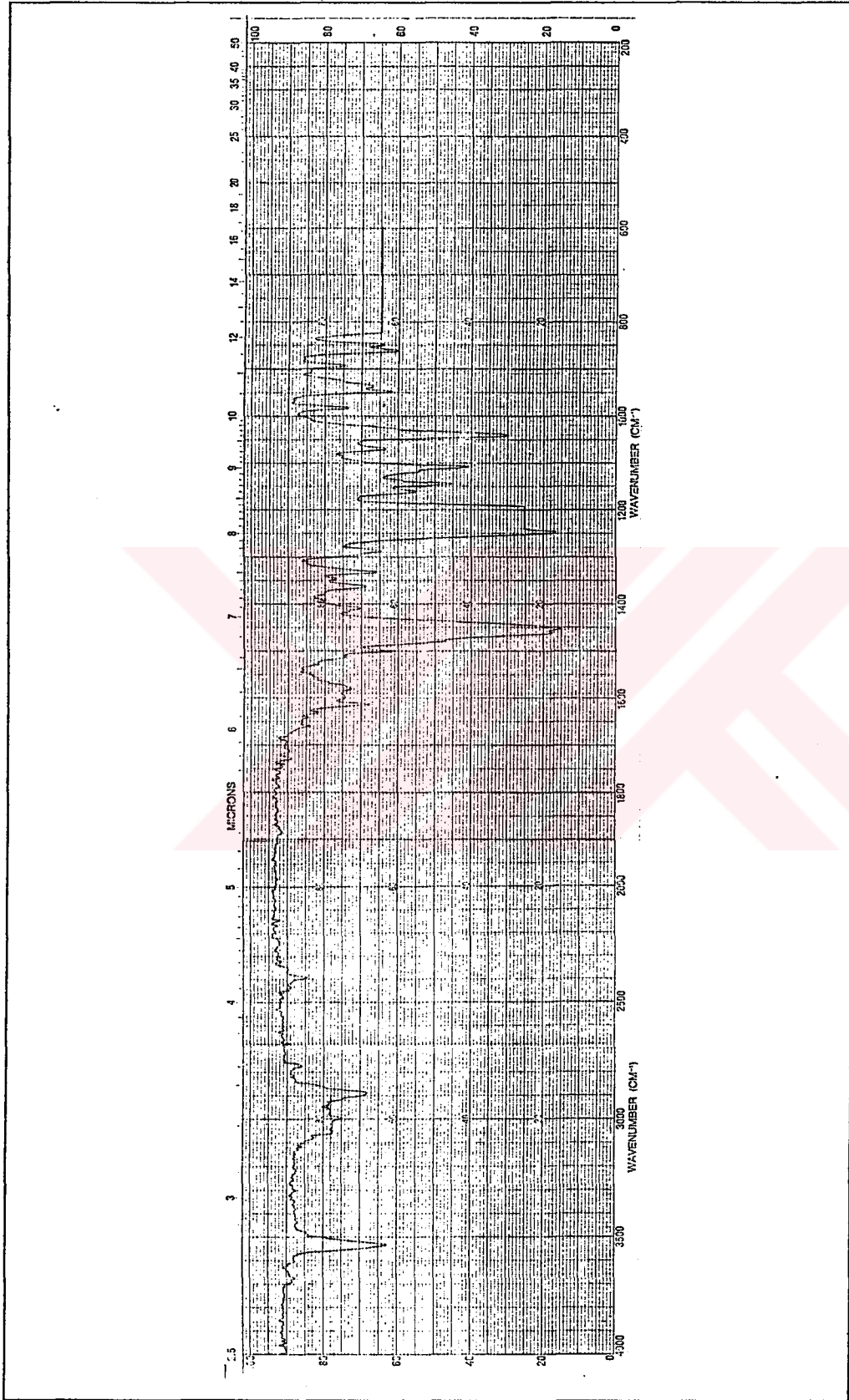
 ^1H , ^{13}C HSQC (Spektrum No 18) (Tablo 2)**TOCSY (Spektrum No 19) (Tablo 2)** **^1H , ^{13}C HMBC (long range) (Spektrum No 20) (Tablo 2)****NOESY (Spektrum No 21) (Tablo 2)**

	¹ H- ¹ H NMR	TOCSY	HSQC	HMBC	NOESY
H-3	7.03	7.27	126.5	130.0, 131.4, 147.8	RCH ₃ , 106.5/123.7, 118.8
H-4	7.26	7.03	118.8	119.1, 120.3, 131.4	103.7, 126.5
H-5	7.11		103.7	118.8, 120.3, 147.3, 148.0	118.8
H-8	7.54		99.1	131.4, 147.3, 147.8, 148.0	OH, OCH ₂ O
H-5'	6.79	6.81	106.5	147.0, 119.1, 130.0	
H-6'	6.81	6.79	123.7	119.4, 130.0, 146.9	OH, OCH ₂ O, 126.5
R-CH ₃	2.03		12.5	119.4, 130.0, 146.9	OH, OCH ₂ O,
OCH ₂ O	6.05		101.0	147.3, 148.0	R-CH ₃
OCH ₂ O	6.04		101.1	146.9, 147.0	
OH	5.28		147.8	120.3	R-CH ₃ , 99.1, 106.5/123.7

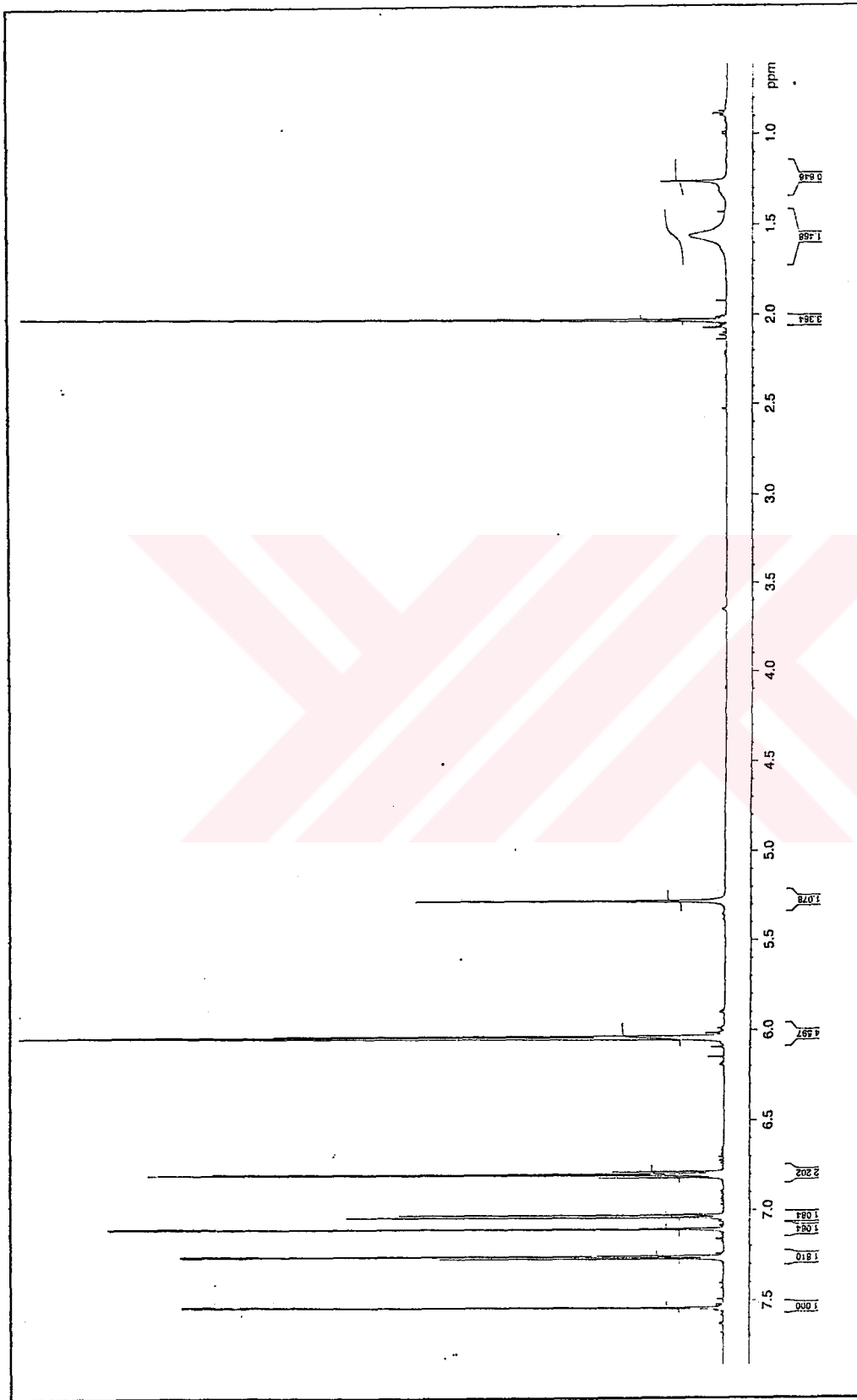
Tablo 2- SA-B Bileşiminin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

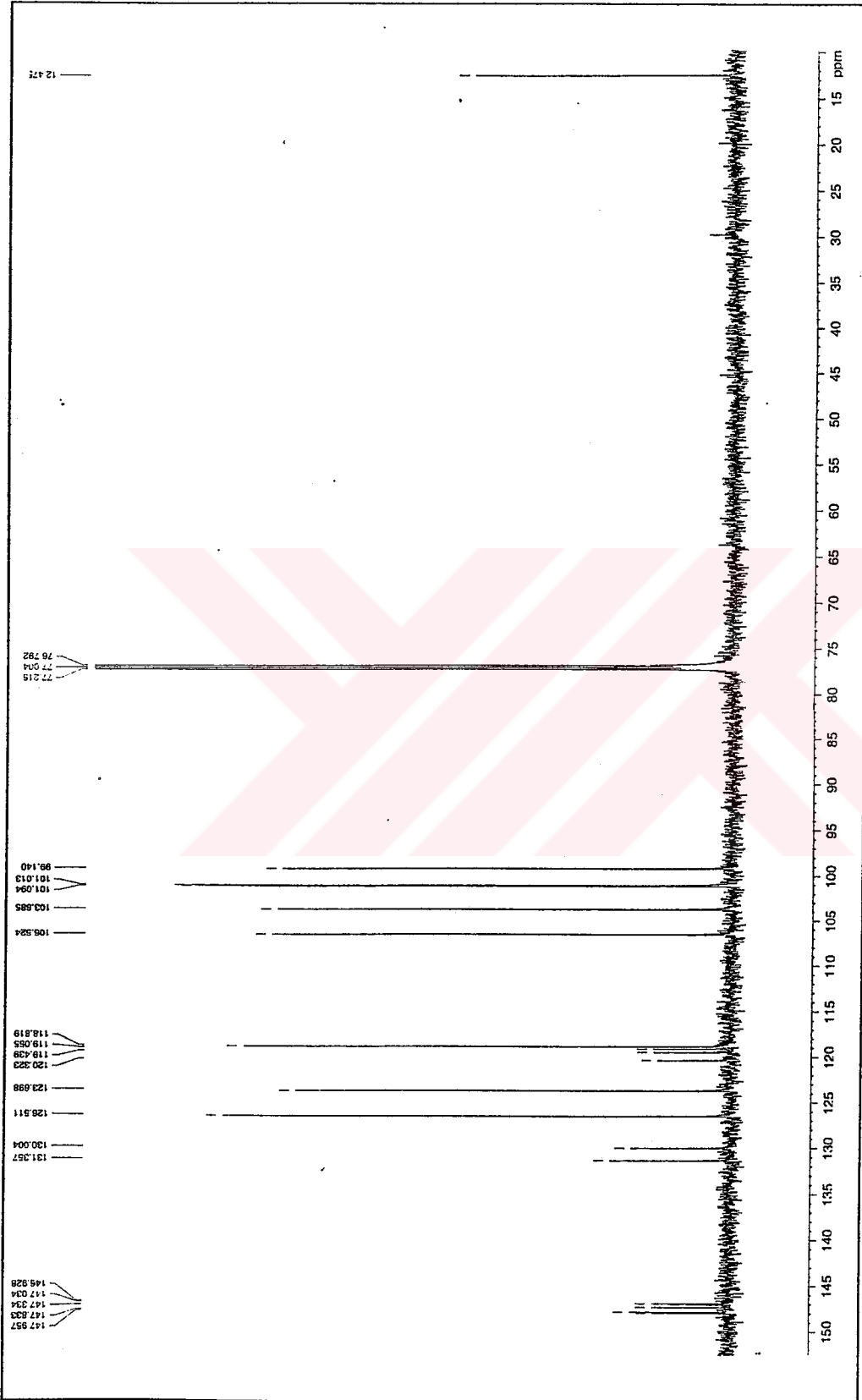


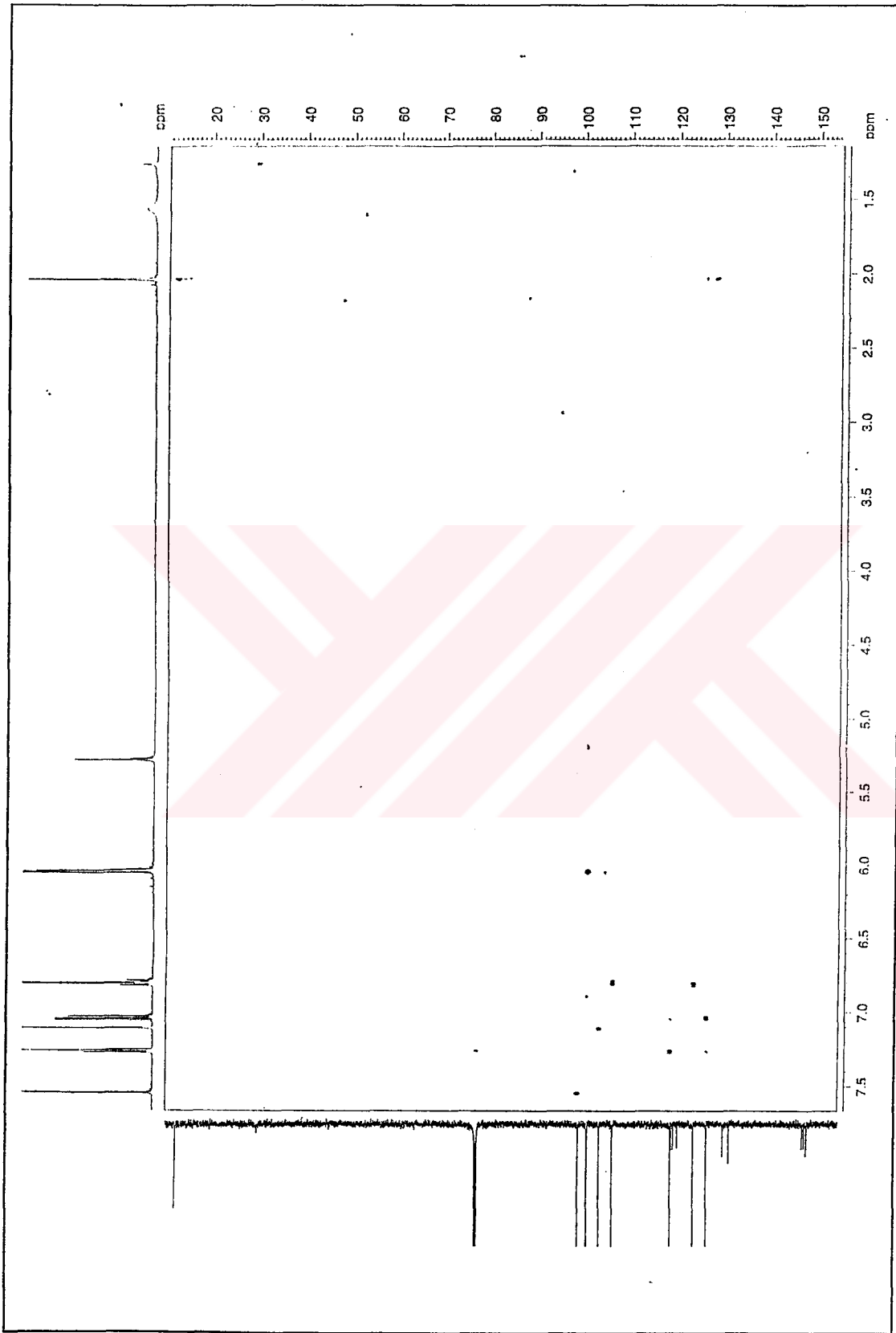
Spektrum No 14. SA-B Bileşğinin UV Spektrumu



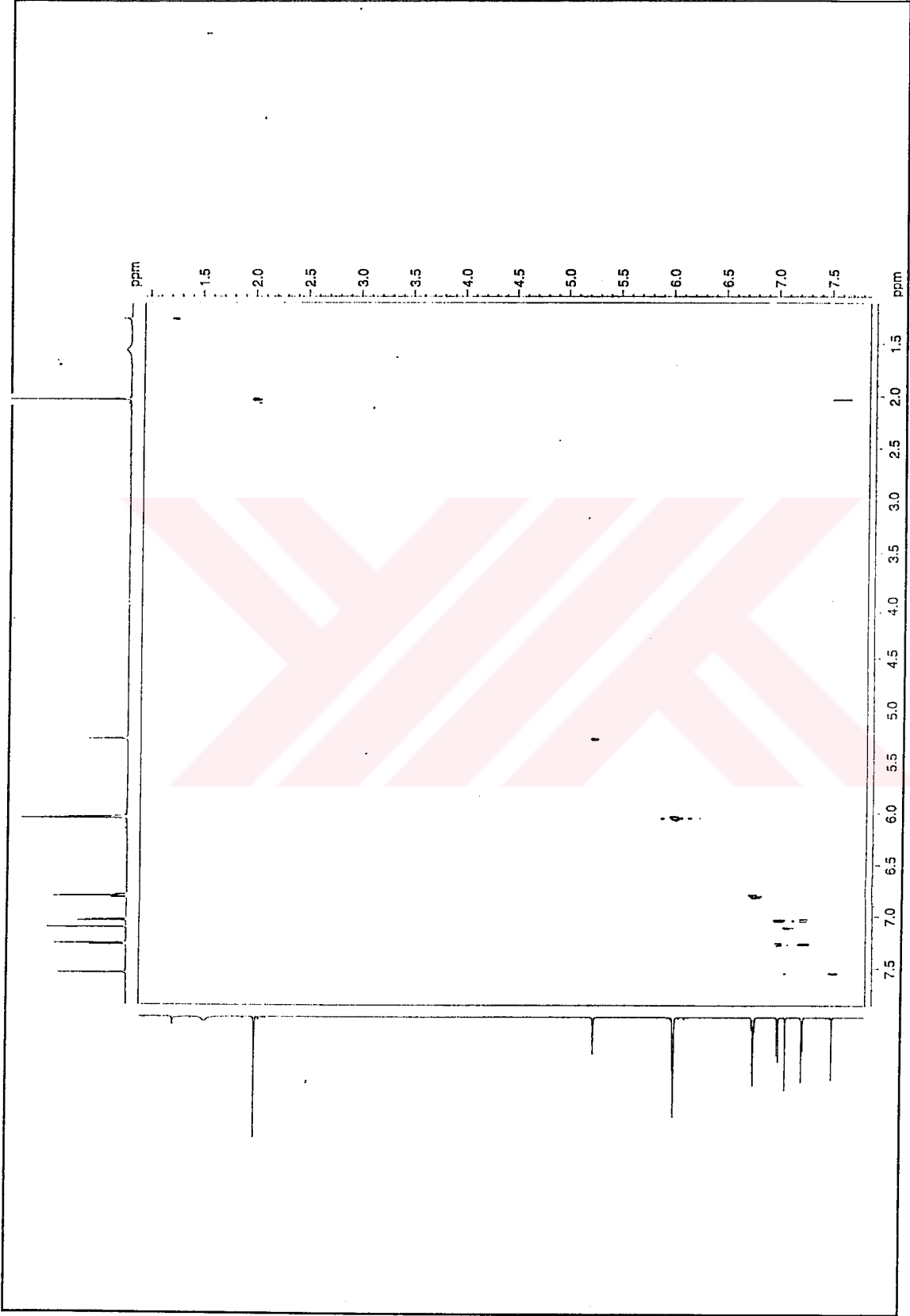
Spektrum No 15. SA-B Bileşğinin IR Spektrumu

Spektrum No 16. SA-B Bileşinin ^1H NMR Spektrumu

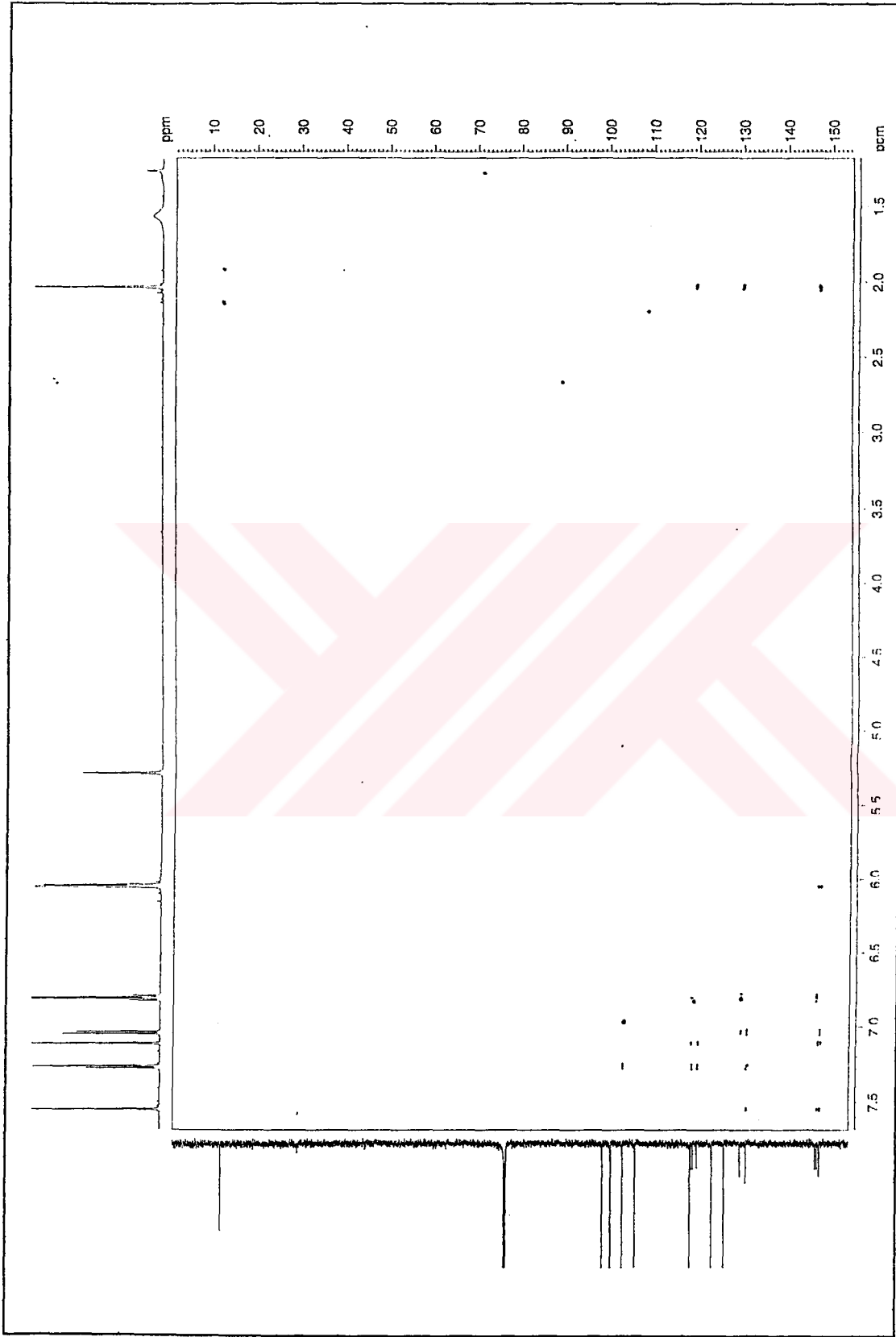
Spektrum No 17. SA-B Bileşinin ¹³C NMR Spektrumu

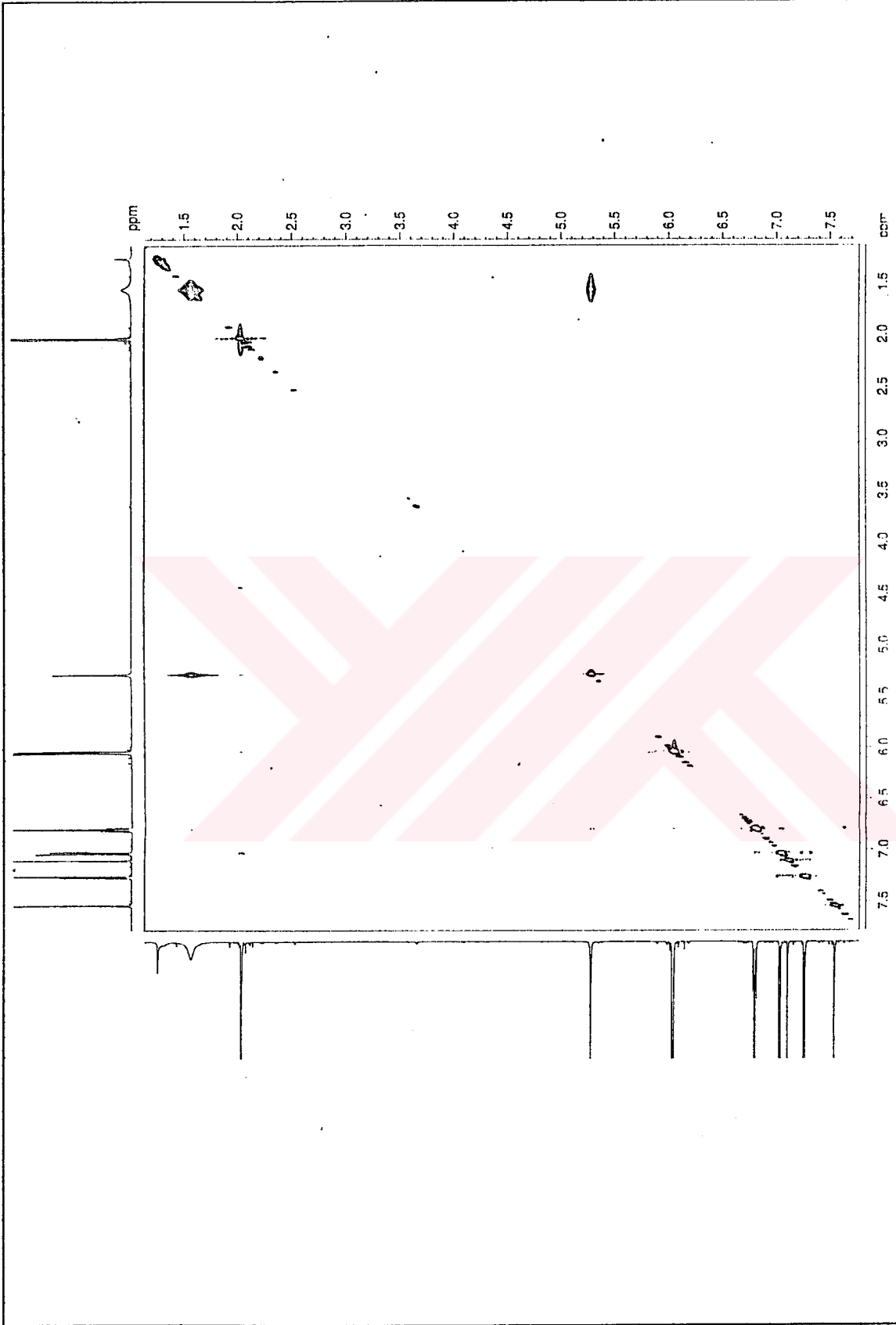


Spektrum No 18. SA-B Bileşinin ^1H , ^{13}C HSQC Spektrumu



Spektrum No 19. SA-B Bileşiminin TOCSY Spektrumu

Spektrum No 20. SA-B Bileşğinin ^1H , ^{13}C HMBC Spektrumu



Spektrum No 21. SA-B Bileşinin NOESY Spektrumu

c. Asetil SA-B Bileşiğinin Spektral Bulguları

UV

MeOH

 λ_{maks} 233, 247, 281, 316, 330 nm.

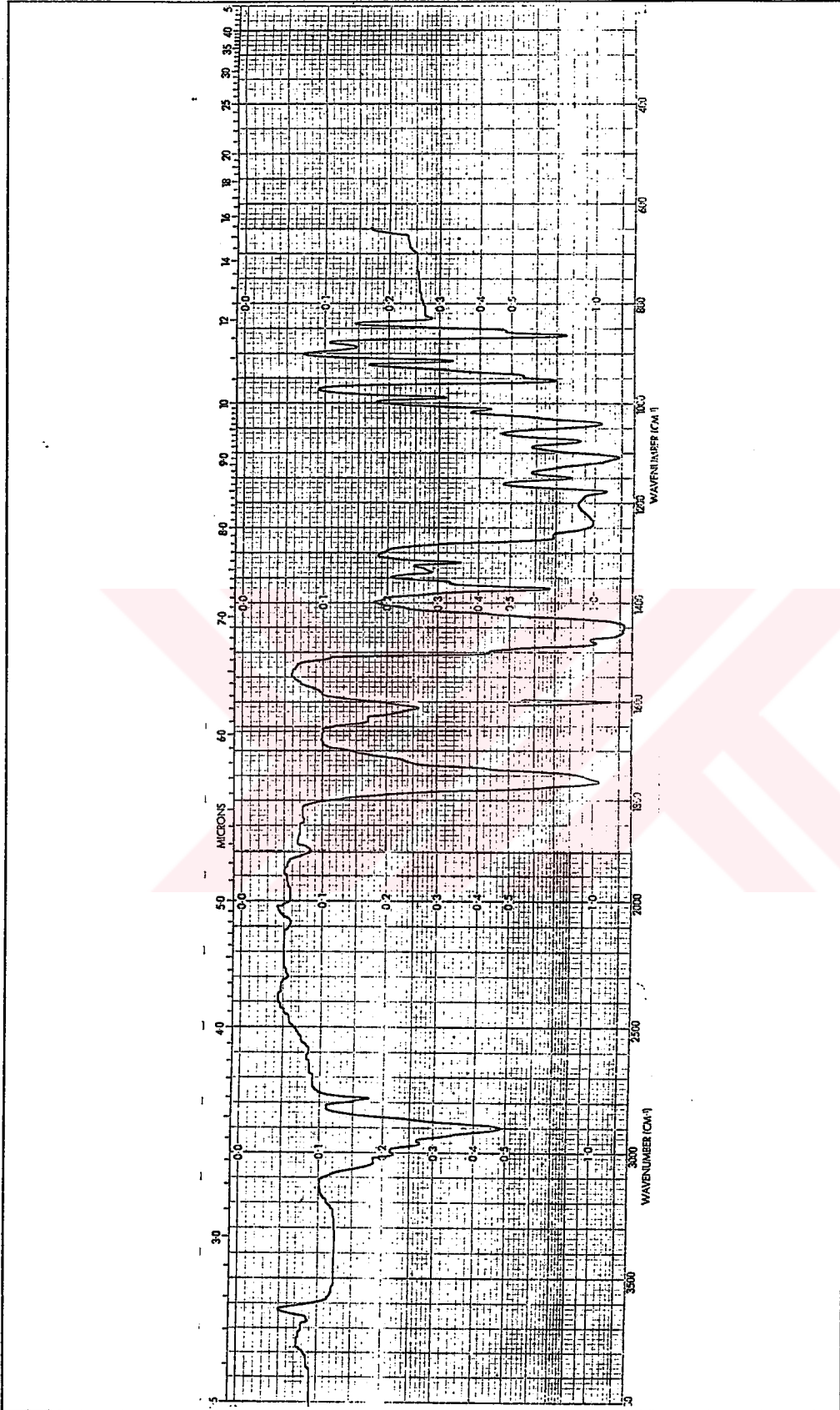
IR (Spektrum No 22)

 CHCl_3 ν_{maks} 1765, 1612 cm^{-1} .

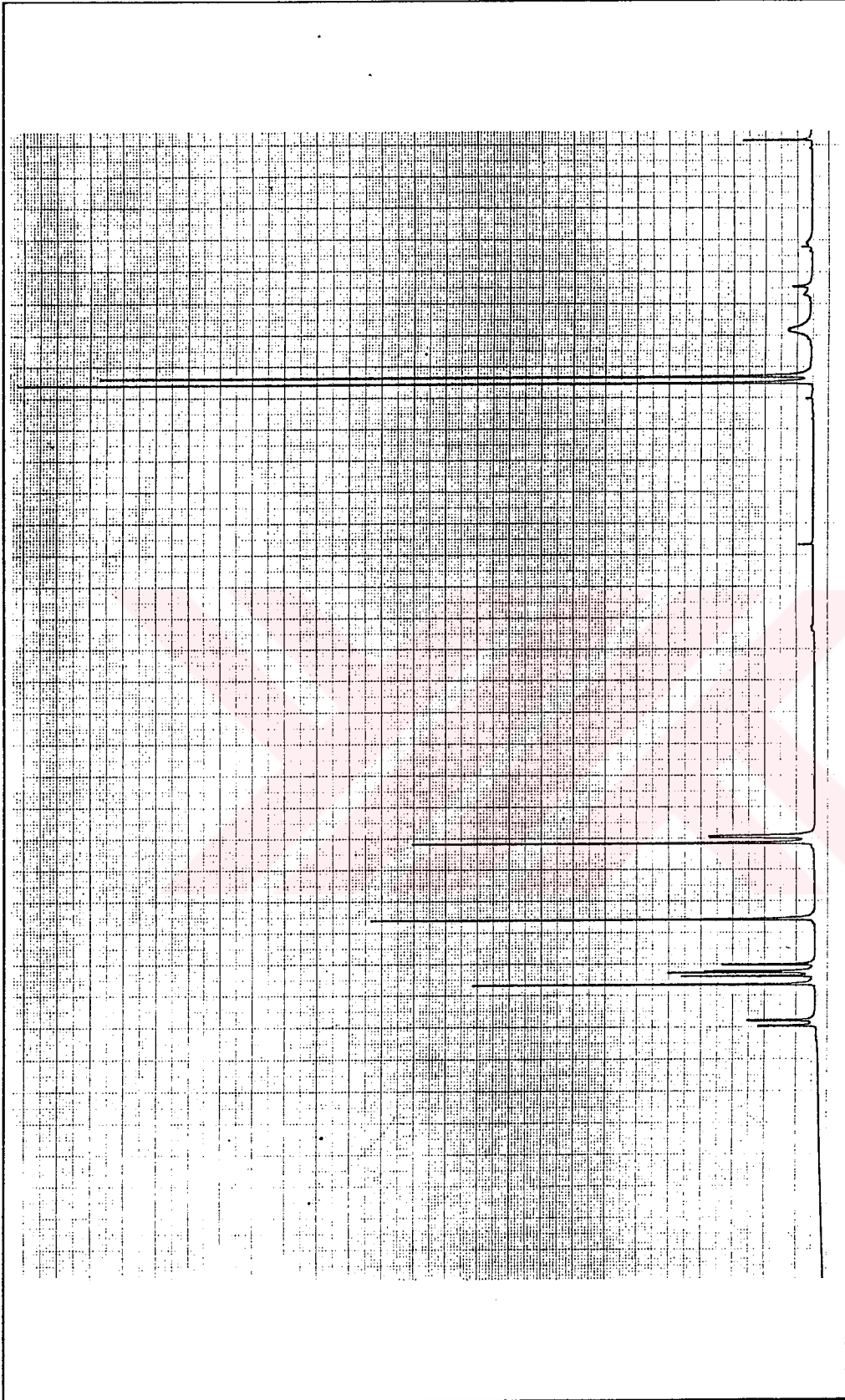
MS

 m/z (%) 365 (5.7), 364 (25.1), 324 (6.7), 323 (41.2), 322 (100), 291 (13.9), 264 (5.2), 263 (8.1), 249 (4.1). $^1\text{H-NMR}$ (Spektrum No 23) CDCl_3

δ 2.03 (3H, s, Ar- CH_3)
2.09 (3H, s, $-\text{OCOCH}_3$)
6.01 (2H, d, $J= 2.4$, $-\text{OCH}_2\text{O}$)
6.06 (2H, s, $-\text{OCH}_2\text{O}$)
6.72 (2H, s)
7.10 (1H, s)
7.17 (1H, s)
7.18 (1H, d, $J= 8.2$ Hz)
7.59 (1H, d, $J= 7.9$ Hz)



Spektrum No 22. Asetil SA-B Bileşğinin IR Spektrumu



Spektrum No 23. SA-B Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu

d. SA-C Bileşğinin Spektral Bulguları

UV (Spektrum No 24)

MeOH

λ_{maks} (log ϵ) 211 (3.71), 300 (2.72), 397 (2.01) nm.

EI (Spektrum No 25)

m/z (%) 369 (4), 176 (28), 175 (52), 163 (30), 162 (21), 150 (24), 149 (55), 148 (100), 147 (38), 134 (70), 104 (32), 92 (21), 91 (66), 90 (38), 89 (89), 78 (34), 77 (51), 76 (42), 65 (23), 63 (35), 60 (79), 43 (66).

IR (Spektrum No 26)

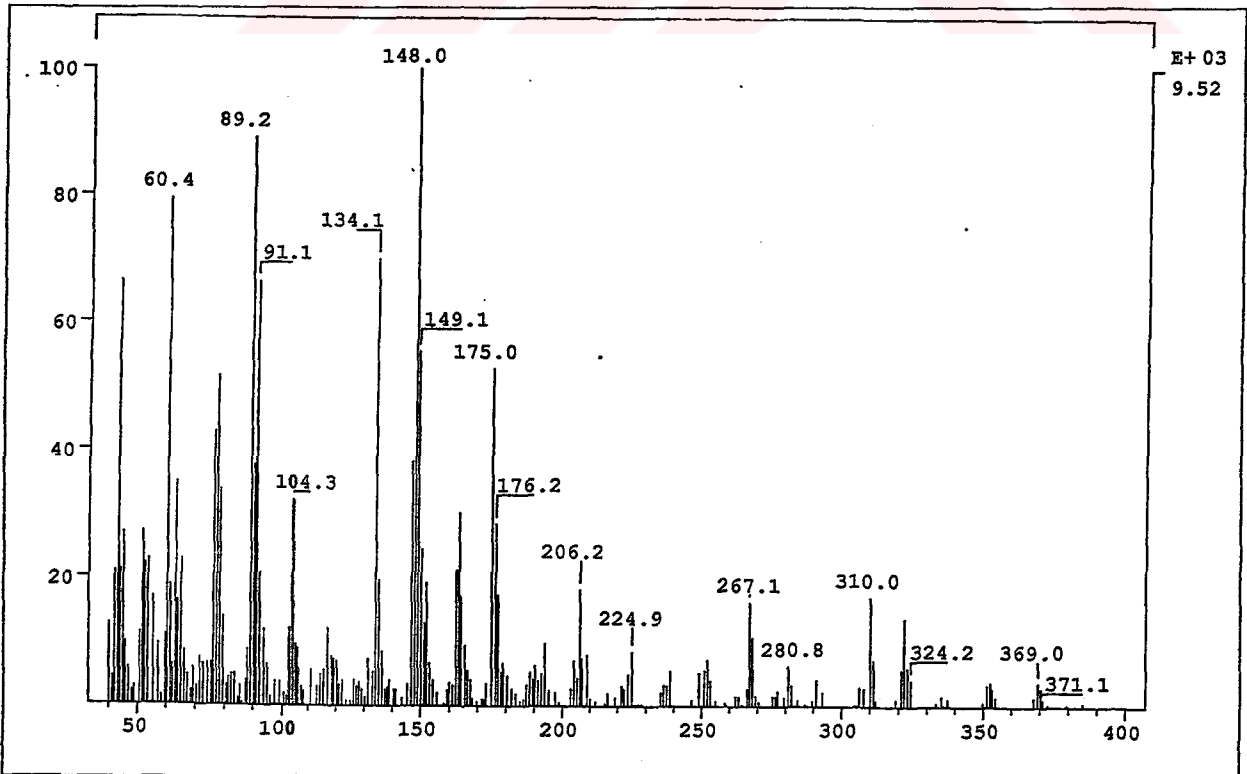
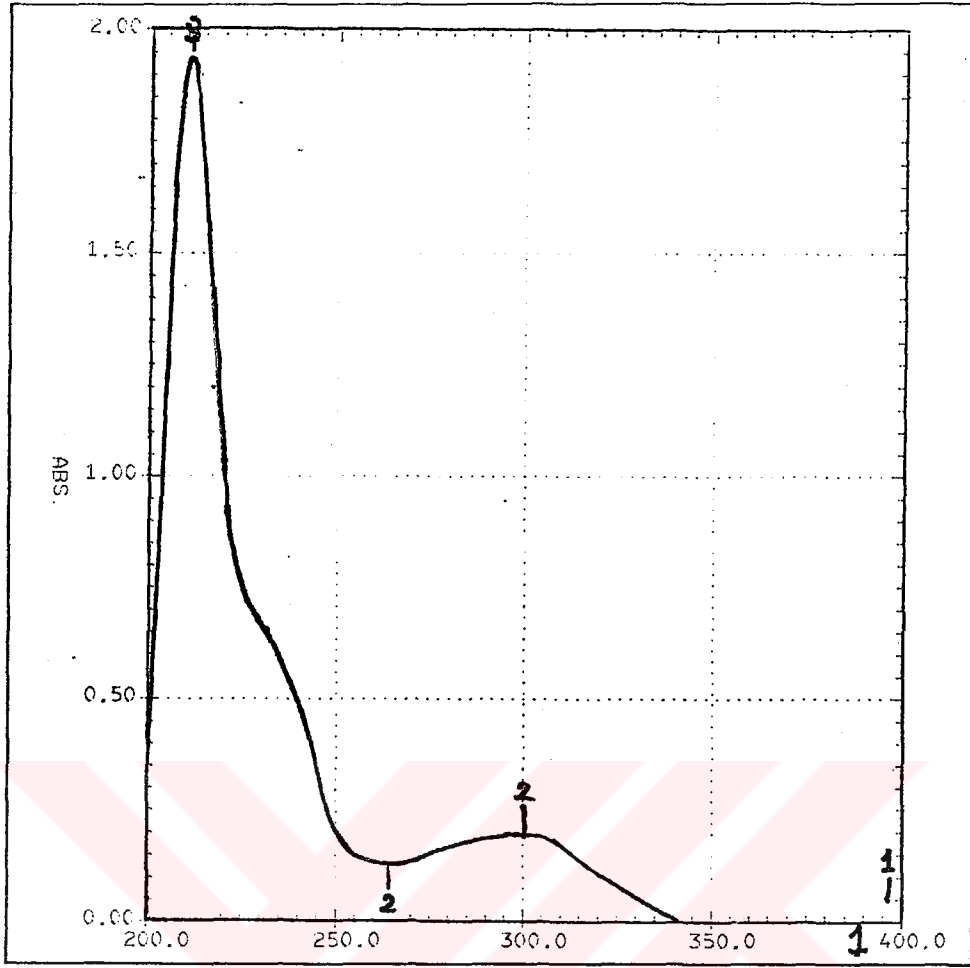
CHCl₃

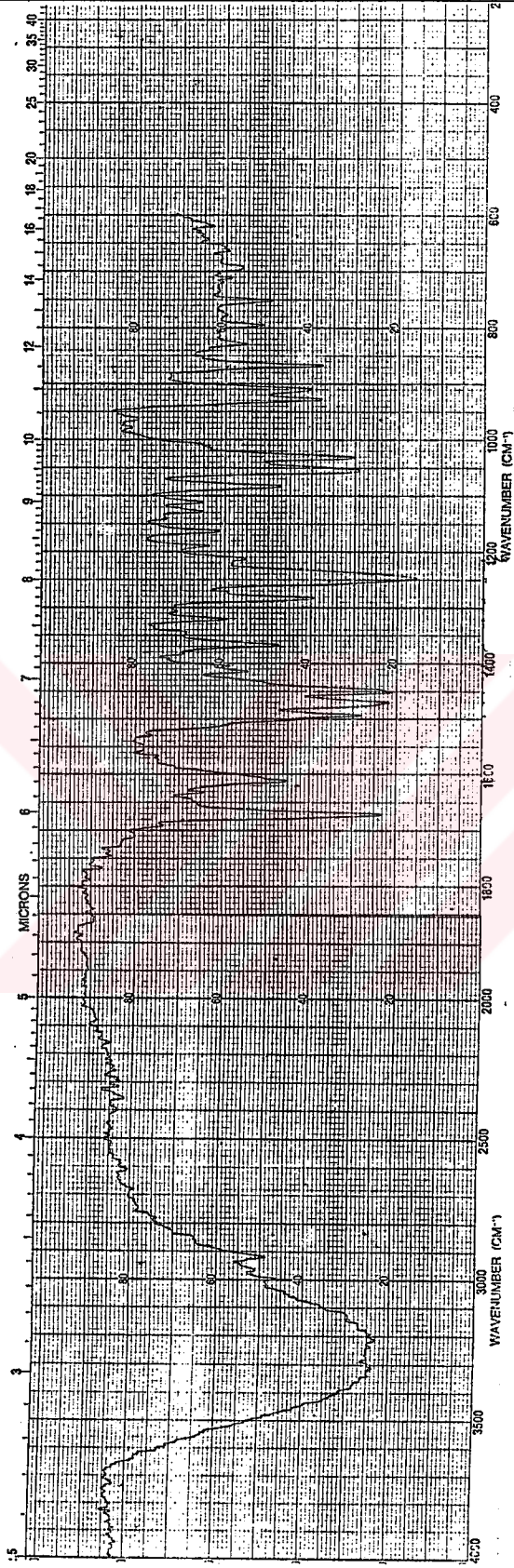
ν_{maks} 3280, 1671, 1602, 1494, 1470, 1451, 1415, 1405, 1367, 1321, 1283, 1248, 1214 cm⁻¹.

¹H NMR (Spektrum No 27)

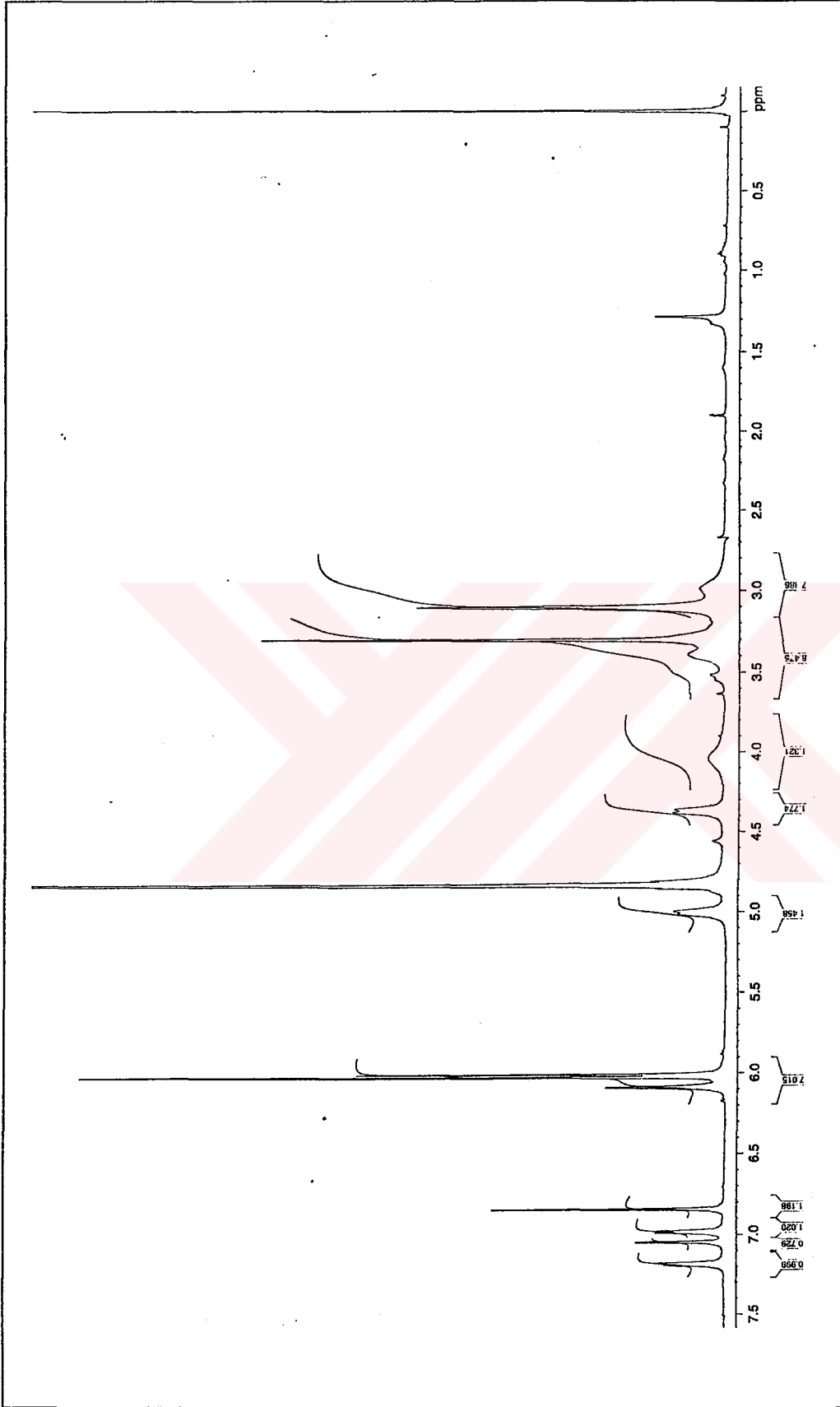
MeOD

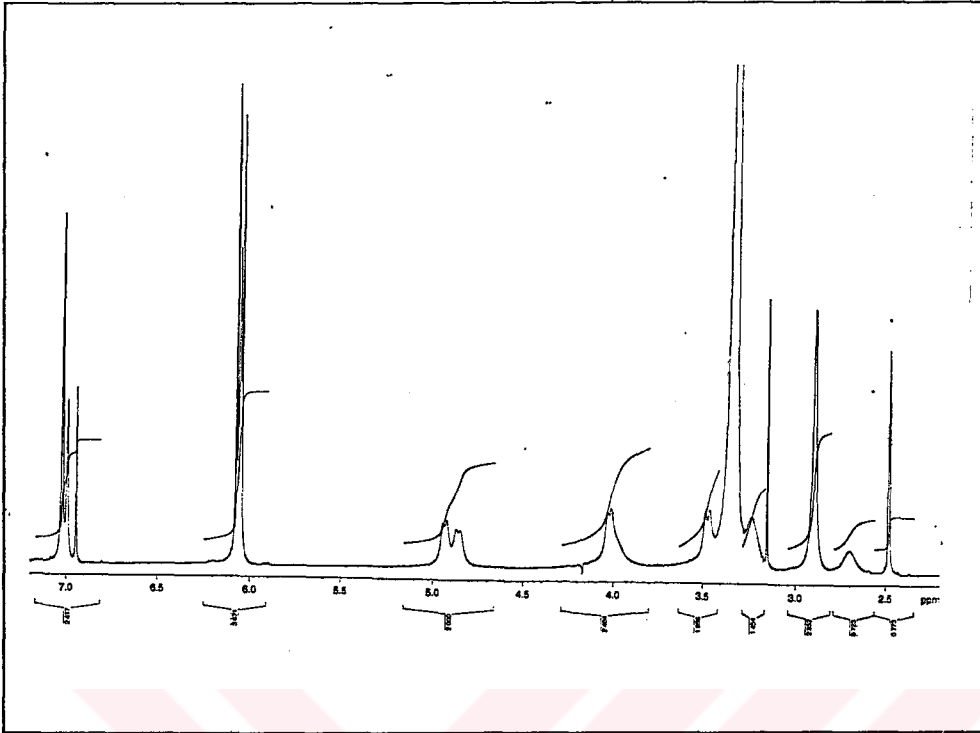
δ	3.10 (3H, s, N-CH ₃)	6.09 (1H, s)
	4.04 (1H, <i>br s</i>)	6.84 (1H, s)
	4.37 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11.8)	6.98 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7.6)
	5.00 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11.8)	7.05 (1H, <i>s</i>)
	6.01 (2H, s, -OCH ₂ O)	7.18 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6.8)
	6.03 (2H, s, -OCH ₂ O)	



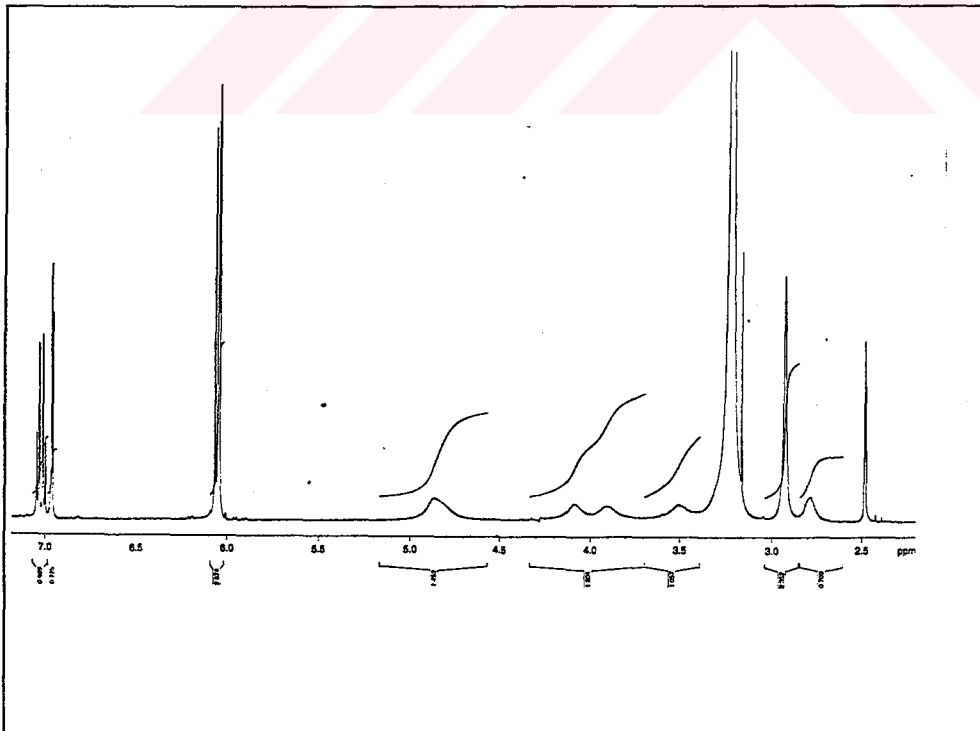


Spektrum No 26. SA-C Bileşiminin IR Spektrumu

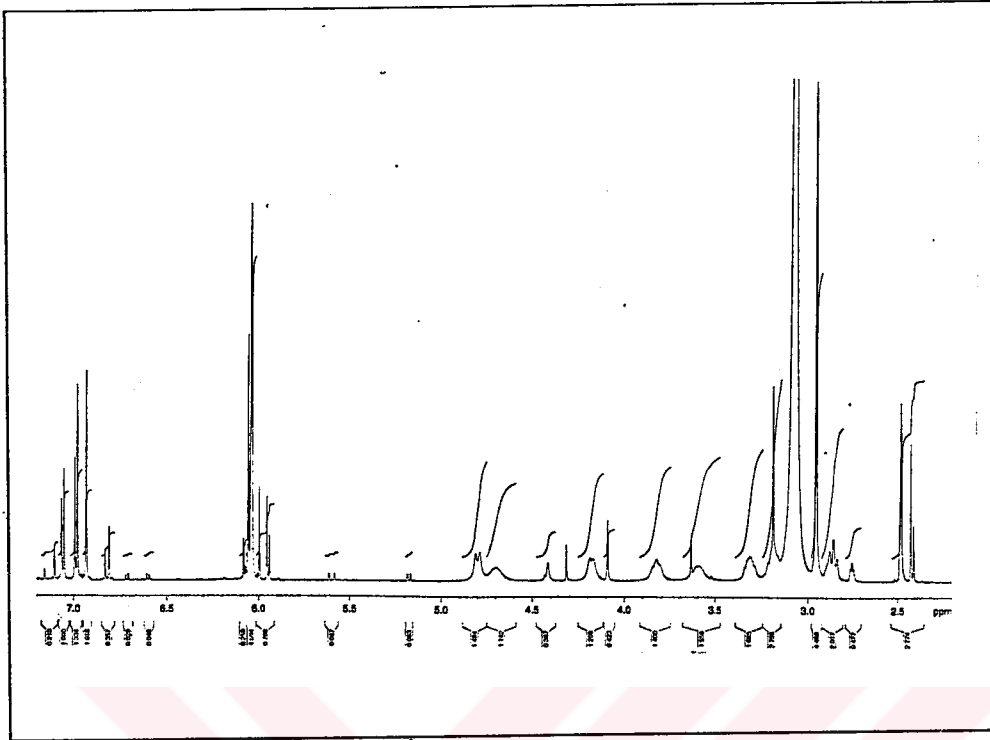
Spektrum No 27. SA-C Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu



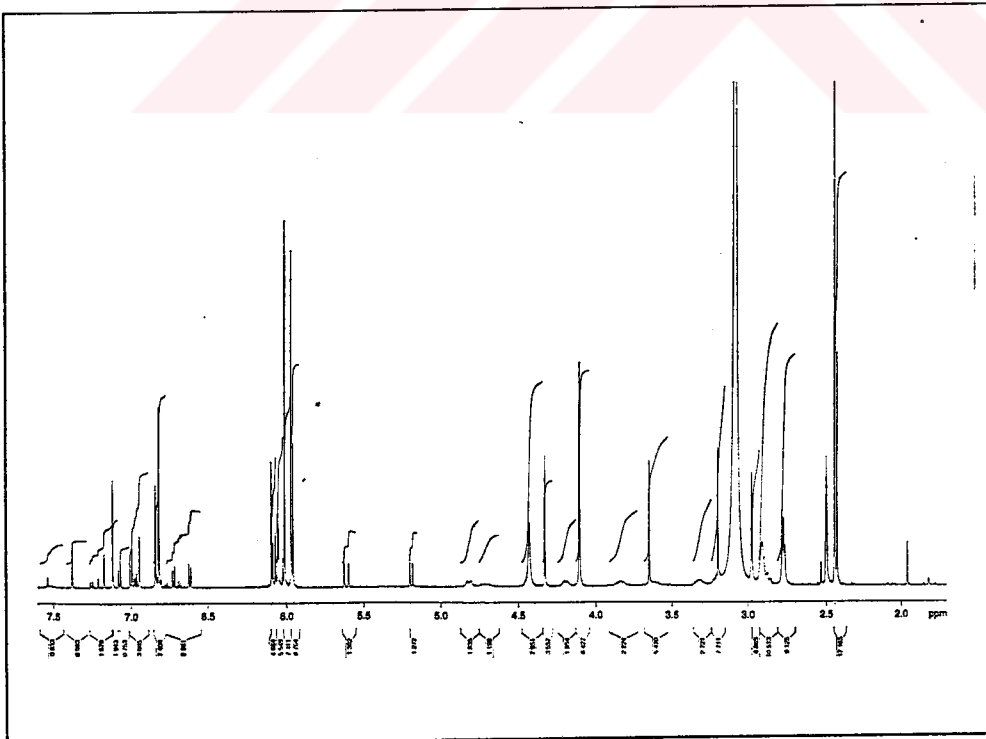
Spektrum No 28. SA-C Bileşğinin ¹H NMR (DMSO)Spektrumu 1



Spektrum No 29. SA-C Bileşğinin ¹H NMR (DMSO)Spektrumu 2



Spektrum No 30. SA-C Bileşğinin ¹H NMR (DMSO)Spektrumu 3



Spektrum No 31. SA-C Bileşğinin ¹H NMR (DMSO)Spektrumu 4

TARTIŞMA VE SONUÇ

N-oksitlerin termal dekompozisyonla hareket maddesinin niteliklerine bağlı olarak çok değişken ve ilginç ürünler verdiği bilinmektedir. Çalışmamızda, önce doğal kaynaktan elde edilmiş olan protopin adlı alkaloitden protopin N-oksit hazırlanmış ve daha sonra bu ara ürün üzerinde piroliz uygulanmıştır. Preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırılan piroliz ürünlerinin yapıları, spektral analiz yöntemlerinden yararlanılarak aydınlatılmıştır.

A. SA-7

SA-7 kodlu bileşiğın 600 MHz NMR spektrometresinde dötörö-kloroform içersinde alınan ¹H-NMR spektrumunun en dikkat çeken özelliği, yarisentez çalışmamızda başlangıç bileşiği olarak kullanılan protopin'in ¹H NMR spektrumu ile kayda değer benzerlikler göstermesidir. Bu benzerliğin ilk örneği, her iki bileşiğın spektrumunda da ondokuz protona ait sinyallerin bulunmasıdır.

SA-7 bileşiğının ¹H NMR spektrumunda aromatik sahada görülen dört sinyalden ikisi singletler halinde iken (δ 6.73 ve 6.95), diğer ikisi etkileşme

değişmezleri 7.9 Hz olan iki dublet halinde (δ 6.78 ve 6.81) izlenmektedir. Ayrıca δ 5.95 ve 5.98 de iki tane metilendioksi grubunun varlığını gösteren sinyaller de mevcuttur. Bu veriler, SA-7 bileşiğinde, protopinde de olduğu üzere, üzerlerinde metilendioksi grupları olan iki aromatik halka bulunduğunu ve bu halkalardan A halkasının 1,2,4,5-, C halkasının ise 1,2,3,4-tetrasüstitüe olduklarını kanıtlamaktadır.

Alifatik alanda δ 2.58 de görülen üç hidrojenlik singlet, bir N-metil grubunun varlığına işaret eder. Ancak bu sinyalin kimyasal kayma değerinin, protopinin N-metil sinyaline göre yaklaşık 0.5 ppm daha aşağı alanda olduğu da dikkat çekmektedir.

Alifatik hidrojenler, yine protopinde olduğu gibi, rezolüsyonu az ve oldukça geniş sinyaller halinde görülmektedir. Bu durum, çözelti halinde bulunan SA-7 bileşiğinin tercihli bir konformasyona sahip olmadığını ve konformasyonel çeşitlilik gösterdiğini düşündürmektedir. Alifatik protonlarda daha iyi bir rezolüsyon sağlanabilmesi ümidiyle, benzen- d_6 içerisinde alınan $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Spektrum No 11), sözkonusu sinyallerin daha geniş olarak çıktığı saptanmıştır. Bu nedenle takibeden tüm NMR deneyleri dötörö-kloroform içerisinde gerçekleştirilmiştir.

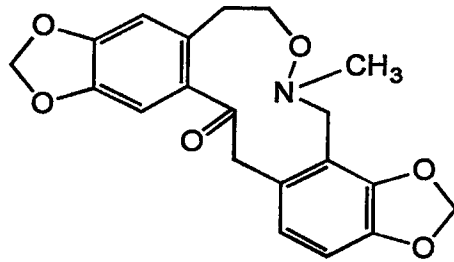
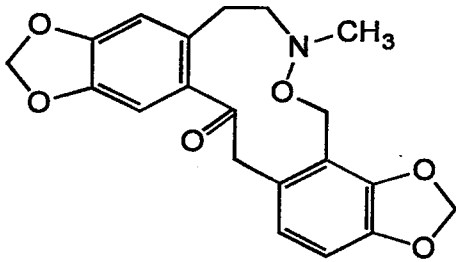
Alifatik hidrojen sayısı gerek SA-7 bileşiğinde ve gerekse protopinde aynıdır. Ancak dikkati çeken bir farklılık, SA-7 nin bazı alifatik hidrojenlerinin, protopinden farklı olarak çok daha aşağı alanda görülmesidir. Bu husus, SA-7 bileşiğinde bazı alifatik hidrojenlerin kimyasal çevresini etkileyerek onların korunmasını azaltan ilave bir unsurun varlığını düşündürmektedir.

Bileşiğin $^{13}\text{C-NMR}$ analizi yirmi adet karbonun varlığını, DEPT analizi ise bu karbonların niteliklerini ortaya koymuştur. SA-7 bileşiği, tıpkı protopinde

olduğu üzere, bir metil, altı metilen, dört metin ve dokuz katerner karbon taşımaktadır. Bu sinyallerden bir çoğunun kimyasal kayma değerleri protopin'e çok yakındır. Örneğin N-metil karbonu δ 45.0 de, metilendioksi karbonları ise δ 101.3 ve 101.4 de rezonans vermektedir. δ 202.4 deki sinyal protopin ve protopin N-oksit'deki karbonil grubunun, SA-7 bileşiğinde de muhafaza edildiğini belirtmektedir. Bu karbonilin varlığı, SA-7 nin IR spektrumunda 1689 cm^{-1} de görülen şiddetli absorpsiyon sinyali ile de doğrulanmaktadır.

Bu verilerin ışıkında SA-7 bileşiğinin kompozisyonunun yirmi karbon, ondokuz hidrojen, bir azot ve dördü metilendioksi gruplarında, birisi de karbonilde yer alan en az beş oksijenden oluşması gerektiği kanısına varılabilmektedir.

Bileşiğin EI kütle spektrumunda moleküler iyon m/z 369 (%35) dadır. Bu moleköl ağırlığı için hesaplanan moleküler formöl $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_6$ dir. Bu ilave oksijen atomu, iki alifatik metilen üzerinde korumayı azaltıp, rezonanslarını aşağı alana kaydıran etken olmalıdır. Bu bulgular, N-oksitde azot üzerinde bulunan oksijen atomunun halka içine dahil olduğuna işaret etmektedir. Buna göre SA-7 bileşiğinin açık kimyasal formölü için aşağıda belirtilen iki olasılık sözkonusudur.



Gerek bu iki izomeri ayırdedebilmek, ve gerekse bileşiğin tüm proton ve karbon kimyasal kayma değerlerini kesin olarak saptayabilmek amacıyla

bileşiğın 600 MHz NMR spektrometresinde 2D-NMR analizleri gerçekleştirilmiştir.

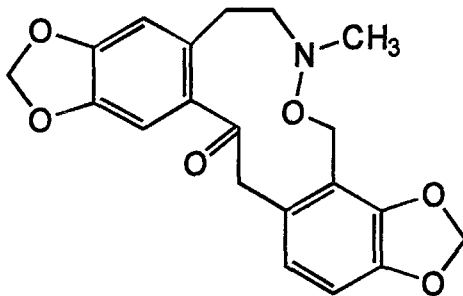
^1H , ^1H DQF COSY deneyi ile birbirleriyle etkileşen hidrojenler saptanmış, ve bu bulgular TOCSY deneyi ile de teyit edilmiştir. Buna göre geminal olan δ 2.81 ve 3.39 (H-5) ile yine geminal bir çift oluşturan δ 2.83 ve 2.93 (H-6) sinyalleri bir dörtlü spin sistemi oluşturmaktadır. δ 4.28/3.98 ve δ 4.80/4.24 ise izole metilen gruplarına ait sinyallerdir.

^1H , ^{13}C HSQC NMR deneyi $^1J_{\text{CH}}$ etkileşmelerine ait bilgiler sağlanmış ve protonlu karbonlarla eşleşen hidrojenler kesin olarak saptanabilmiştir.

Daha sonra ^1H , ^{13}C HMBC deneyinde, protonlarla $^2J_{\text{CH}}$ ve $^3J_{\text{CH}}$ etkileşmeler, yani protona göre β ve γ konumunda yer alan karbonlarla korelasyonlar elde edilmiş ve böylece katerner karbonlar da dahil olmak üzere bileşiğın NMR veri haritası çıkartılabilmektedir.

^1H , ^{13}C HMBC verileri, bileşiğın yukarıda önerilmiş bulunan alternatif yapılar arasında ilk formül ile uyduğunu göstermektedir. Özellikle N-metil protonlarının, dörtlü spin sisteminin üyesi olan δ 64.6 karbonu ile belirgin bir $^3J_{\text{CH}}$ etkileşmesi göstermesi, azot ve oksijenin halka içerisinde sırasıyla 7 ve 8 konumlarında yer alması gerektiğini, alternatif 8 ve 7 dizilişinin mümkün olmayacağını kesinlikle ortaya koymaktadır.

Böylece SA-7 kodlu bileşiğımızın açık kimyasal formülünün aşağıda gösterildiği şekilde olduğu kesinlik kazanmıştır;



Bu bileşik, daha önce diğer bazı araştırmacılar tarafından protopin N-oksit pirolizi ile elde edilen ana ürünle identiktir (26, 33). Ancak Kinuko ve arkadaşlarının çalışmasında, bileşiğin 50⁰ C da trifluoroasetik asit içerisinde alınan ¹H NMR spektrumundan sadece metilen protonlarına ait kimyasal kayma değerleri rapor edilmiştir. Önerilen formülün ¹³C NMR verileri ile de desteklendiği belirtilmesine karşın, bu değerler verilmemiştir.

Gözler ve Shamma tarafından gerçekleştirilen çalışmada, o günün şartları içinde sadece tek boyutlu NMR deneyleri sonucunda elde edilebilen veriler rapor edilmiştir. Sözkonusu çalışmadaki ¹H NMR bulgularının, tarafımızdan saptanan değerlerle uyum içinde olduğu görülmektedir. Ancak H-12 ve H-13 kimyasal kaymalarının değişebilir olarak rapor edilebildiği, geniş sinyaller halinde çıkan alifatik proton rezonanslarının ise rapor edilemediği görülmektedir.

Yine aynı çalışmada rapor edilmiş bulunan ¹³C NMR spektral değerlerinden bazılarının, tarafımızdan yapılan çift boyutlu NMR deneyleri sonuçları esas alınarak revizyonu gerekmiştir. Örneğin δ 64 civarında çıkan sinyal, rapor edildiği üzere C-6 da değil, C-9 da yer almaktadır. Buna bağlı olarak C-9 için rapor edilmiş olan δ 62 değeri C-6 karbonuna aittir. Keza δ 145, 146 ve 147 sinyalleri rapor edildiği üzere sırasıyla C-11, C-12 ve C-2 de değil, C-2, C-12 ve C-11 de yer almaktadır.

Böylece çalışmamızda, protopin N-oksit'in pirolizi sonucunda ana ürün olarak kazanılan dibenzoksasasikloundesin yapısındaki bu bileşiğin dötörö-kloroform içerisindeki ¹H ve ¹³C verileri kesinlikle saptanmış olmaktadır.

B. SA-B

Protopin N-oksitin piroliz ürünleri arasında miktar açısından üçüncü sıradaki ürün olan SA-B kodlu bileşiğin dötöro-kloroform içerisinde alınan ^1H -NMR spektrumunda dikkati çeken husus, alifatik sahada, δ 2.03 de görülen üç protonluk keskin singlet ile δ 5.28 deki bir hidrojene eşdeğer singletin haricinde başka hiçbir sinyalin bulunmamasıdır. Başlangıç bileşikleri olan protopin ve protopin N-oksitte dört tane metilen grubu bulunduğu halde, SA-B bileşiğinde hiç alifatik hidrojen bulunmaması, piroliz sırasında cereyan eden bir aromatisasyon tepkimesine işaret etmektedir.

Aromatik sahada altı hidrojene ait sinyaller görülmektedir. Bunlardan iki tanesi δ 7.11 ve 7.54 de birer protonluk singletler halindedir. δ 7.26, 7.03, 6.81, ve 6.79 da izlenen dubletlerin etkileşme katsayıları, bu hidrojenlerin birbirlerine göre orto konumda olan iki çiftten ibaret olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca δ 6.05 ve 6.04 de görülen ikişer hidrojen değerindeki iki singlet, iki metilendioksi grubunun bulunduğunu göstermektedir.

SA-B bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumunda on dokuz tane karbona ait sinyaller mevcuttur. Yukarı alanda görülebilen tek sinyal δ 12.5 dadır. Bu değer, ^1H -NMR spektrumunda izlenen üç protonluk singletin fenil halkasına bağlı bir metil olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca yine ^1H -NMR spektrumunda δ 5.28 de izlenen protonun bağlı olduğu karbon için uygun değerde bir sinyal bulunmaması, bu hidrojenin değişebilen bir proton olduğu kanısını uyandırmıştır. Gerçekten de bileşiğimizin metanollü çözeltisinde

alınan UV spektrumu, alkali ilavesiyle batokromik kayma göstermiş ve bileşikte fenolik bir grubun varlığını doğrulamıştır.

^{13}C NMR spektrumunda iki tane metilendioksi grubu δ 101.0 ve 101.1 de izlenmektedir. Aromatik alanda yer alan diğer on altı sinyalden, δ 147-148 arasındaki dar alanda yer alan beş sinyal, bileşikte metilendioksi gruplarının ve fenolün bağlandığı karbonlara aittir.

Bu aşamada tek boyutlu ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumlarından edinilen bilgilerle yazılabilen moleküler formül $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_5$ dir ve bu formül için hesaplanan molekül ağırlığı 322 dir.

Bileşiğin ESI-MS spektrumundan elde edilen $(\text{M}+\text{H})^+$ değeri m/z 323 dedir. Bu değer, yukarıda önerilen moleküler formül için hesaplanan değer ile uyum içerisindedir.

Bir sonraki aşamada, bileşiğimizin yapısını aydınlatabilmek, ayrıca proton ve karbonların kimyasal kayma değerlerini kesin bir şekilde verebilmek amacı ile çift boyutlu NMR tekniklerinden yararlanılmıştır.

^1H , ^{13}C HSQC sayesinde protonlar ile $^1J_{\text{CH}}$ etkileşmesi gösteren karbonlar saptanmıştır.

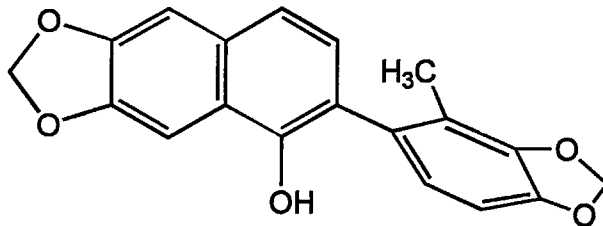
^1H , ^1H TOCSY ile protonlar arasındaki etkileşmeler bulunmuştur. Bu bulgulara göre δ 7.03 ve 7.26 de rezonans veren protonlar orto konumdadırlar. Keza δ 6.79 ve 6.81 sinyalleri de birbirlerine göre orto konumda yer alan iki aromatik protona aittir.

Protonların iki ve üç bağ aracılığı ile etkileşmelerini veren HMBC deneyi ile, hem bileşiğin iskeletini ortaya koymak, hem de katerner karbonlara ait kimyasal kayma değerlerini tam olarak saptayabilmek mümkün olmuştur. HMBC spektrumunun değerlendirilmesinde, öncelikle singletler halinde çıkan

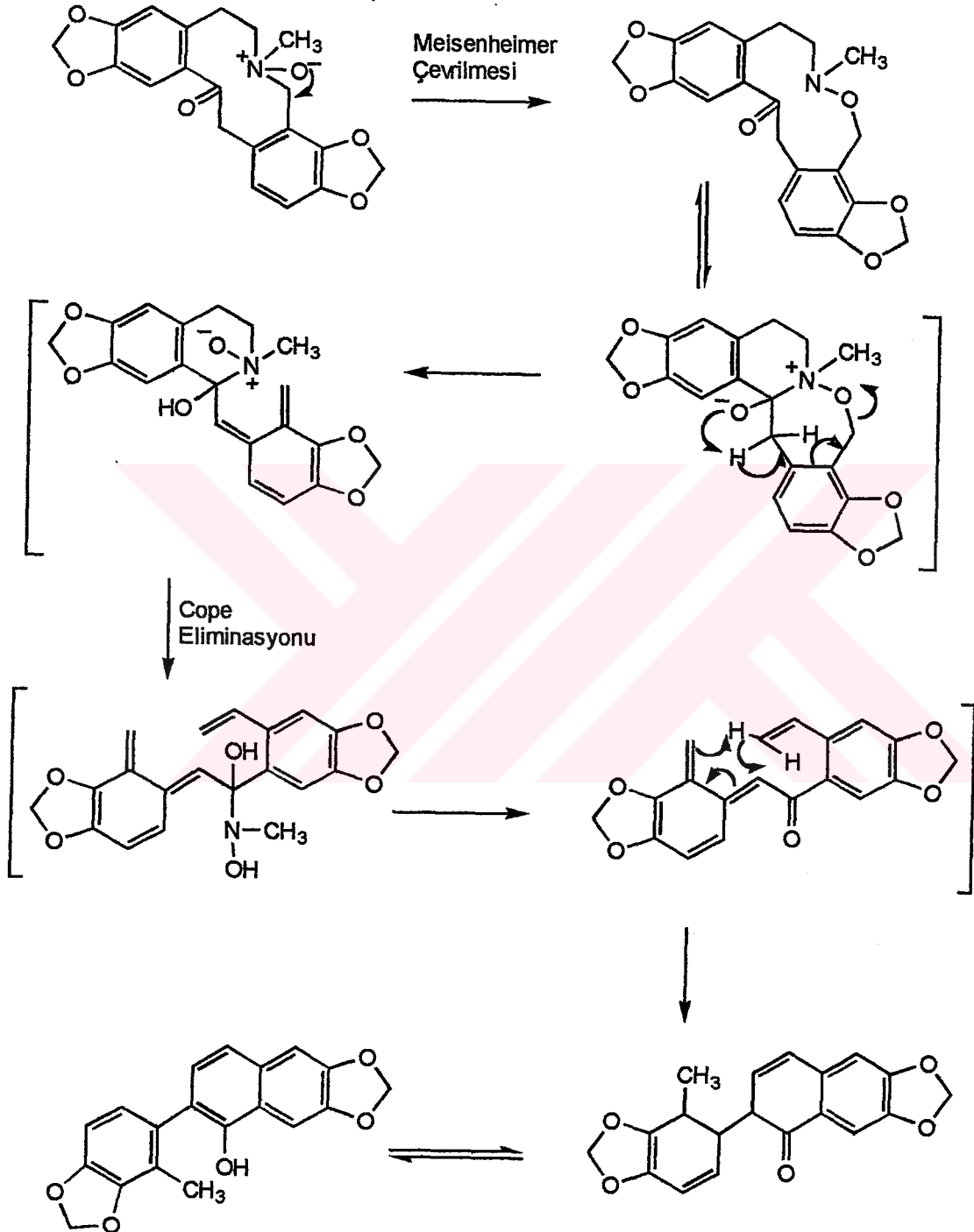
iki aromatik hidrojeni ve metilendioksi gruplarından birini taşıyan halkanın (A halkası) proton ve karbon kimyasal kayma değerleri saptanmış, ve bu halkanın 1,2,4,5-tetrasübstitüe karakteri bulunmuştur. δ 7.11 de sinyal veren hidrojenin $^3J_{CH}$ etkileşmesi ile δ 118.82 de rezonans veren karbona ve dolayısıyla δ 7.26 da rezonans veren protona bağlanması, bir naftalen halkası ile karşı karşıya olduğumuzu kanıtlamaktadır. Bu kez δ 7.26 protonu esas alınarak elde edilen korelasyonlarla naftalendeki B halkasının 1,2,3,4-tetrasübstitüe özelliğini saptamak ve ayrıca fenolik hidroksilin de bu halkada yer aldığını kanıtlamak mümkün olmaktadır. δ 7.03 de sinyal veren B halkası protonunun, δ 130.0 değeri ile gösterdiği $^3J_{CH}$ etkileşmesi, B halkası ile C halkasının bağlantısını sağlamaktadır. Yine HMBC korelasyonları ile C halkasının 2 konumunda metil, C-3,4 konumlarında ise metilendioksi grubunun bulunduğu kesinlikle söylenebilmektedir.

Uzaysal olarak etkileşen çekirdekler hakkında bilgi sağlayan NOESY tekniği ile bileşiğin konformasyonel tercihi de belirlenebilmiştir. C halkasında 2' konumunda yer alan metil grubu ile aynı halkada bulunan H-6' nın, naftalen halkasının gerek H-3 ü ile, ve gerekse C-1 konumunda bulunan fenolik hidrojen ile eşdeğer boyutlarda etkileşme göstermesi, C halkasının naftalen halkasına dik yönelme gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Bu bilgilerin ışığında SA-B bileşiği için aşağıdaki açık kimyasal formül yazılabilmektedir;



SA-B nin protopin N-oksitden oluşum mekanizmasının, şemada gösterildiği gibi olduğu düşünülmektedir (33);



Asetil SA-B

SA-B bileşiginde bulunan fenolik grubun varlığına bir diğer kanıtı oluşturması amacı ile gerçekleştirilen SA-B bileşiginin asetilasyonu ile kazanılan asetil SA-B'nin kloroform içinde alınan IR spektrumunda 1765 cm^{-1} de çıkan ve ester grubuna işaret eden kuvvetli absorpsiyon sinyali, fenolik grubun asetilasyonunun cereyan ettiğini ortaya koyan en belirgin bulgudur.

Bileşigin metanollü çözeltisinde alınan UV spektrumunda alkali ilavesiyle batokromik kayma görülmemesi, fenolik grubun asetillenerek asetoksi grubuna dönüştüğüne ilave bir kanıt oluşturmaktadır.

Bileşigin EI kütle spektrumunda m/z 364 de % 25 bağıl bollukta görülen moleküler iyon, beklendiği üzere asetillenmiş SA-B ye karşı gelen $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{O}_6$ kapalı formülü ile uyum içerisindedir. Baz tepe, asetil grubunun kolayca ayrılması ile oluşan $(\text{M} - \text{CH}_3\text{CO})^+$ (m/z 322) iyonuna aittir.

Yukarıda özetlenen spektral veriler, SA-B bileşiginde fenolik bir grubun varlığına daha ileri bir kanıt oluşturmaktadır. Asetil SA-B ile ilgili diğer spektral veriler çalışmamızın Deneysel kısmında sunulmuştur.

C. SA-C

Piroliz tepkimesi sonucunda en fazla miktarda elde edilen ürün olan SA-C kodlu bileşiğin EI kütle spektrumundan elde edilen $(M+H)^+$ değeri m/z 369 dadır. Başlangıç maddesi olan protopin N-oksit ile SA-C kodlu bileşiğin molekül ağırlığının aynı oluşu, herhangi bir eliminasyon tepkimesinin gerçekleşmediğini göstermektedir. Ancak yapılan kromatografik çalışmalar, aynı molekül ağırlığına sahip olan protopin N-oksit ile SA-C'nin farklı R_f değerlerine sahip olduğunu ortaya koymuştur.

SA-C bileşiğinin dötöro-kloroform içerisinde alınan 1H -NMR spektrumunda δ 3.10 da görülen üç protonluk keskin singlet, bir metil grubunun varlığına işaret etmektedir. Ancak bu sinyalin olağan bir N-metil sinyalinden beklenene göre oldukça aşağı alanda görülmesi, bu grubun korunmasını azaltan bazı unsurları içeren bir kimyasal çevre içerisinde bulunduğunu düşündürmektedir.

Alifatik hidrojenler, protopin, protopin N-oksit ya da SA-7 kodlu bileşiğimizde olduğu üzere, oldukça geniş sinyaller halinde görülmektedir. Bu durum, SA-C bileşiğinin de nonplanar yapısı nedeniyle konformasyonel esneklik gösterdiğini düşündürmektedir. Alifatik sahada en dikkat çekici sinyaller δ 4.37 ve 5.00 de izlenen ve 11.8 Hz lik etkileşme katsayısına sahip birer protonluk geniş dubletlerdir. Bu sinyaller, molekülde oksijene α konumda bulunan bir metilen grubunun varlığını düşündürmektedir.

Bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumunda δ 103.6 ve 104.0 da görülen sinyaller ile, 1H -NMR spektrumunda δ 6.01 ve 6.03 de ikişer hidrojen değerindeki

singletler halinde izlenen iki sinyal, başlangıç bileşiklerinde bulunan iki metilendioksi grubunun korunduğunu göstermektedir.

Yine $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda aromatik sahada görülen sinyallerden ikisi δ 6.98 ve 7.18 de orto etkileşme görülen iki dublet, diğer ikisi δ 6.84 ve 7.05 de yine birer protonluk singletler halinde ve bir tanesi de δ 6.09 da bir protonluk singlet halinde izlenmektedir.

Bileşimizin IR spektrumunda 1671 cm^{-1} de görülen absorpsiyon sinyalinin absorpsiyon frekansı konjuge bir keton karbonili ya da amit karbonilinin varlığını düşündürmektedir.

Tek boyutlu NMR deneylerinde elde edilen bulgular, SA-C bileşiğinin yapısının aydınlatılmasında yeterli bilgiyi sağlayamadığından, çift boyutlu NMR deneylerinin gerçekleştirilmesi aşamasına geçilmiştir. Ancak, Spektrum 28-31de de görüldüğü gibi, çözünürlüğün uygun olarak sağlandığı DMSO içerisinde bileşik, 10 dakikada tamamen bozunmuş ve bu nedenle çift boyutlu NMR tekniklerinin gerçekleştirilmesinde başarılı olunamamıştır.

SA-C bileşiğinin açık kimyasal formülünün saptanabilmesi için yeterli bilgilere ulaşılamamış olması nedeni ile, yapısı bu çalışma kapsamında aydınlatılamamıştır. Ancak, ilginç bir piroliz ürünü olabileceğini düşündüğümüz bu bileşik üzerinde, gelecekte imkanlar elverdiği takdirde, stabilitesinin yeterince sağlanabileceği başka polar çözücüler içerisinde çift boyutlu NMR deneylerinin tekrar uygulanmasının yerinde olacağı görüşündeyiz.

SONUÇ

Bu çalışmada elde edilmiş bulunan SA-7 ve SA-B kodlu bileşikler, daha önceki çalışmalarda elde edilen bileşiklerle aynıdır. Tarafımızdan elde edilen spektral veriler de, daha önce rapor edilenlerle uyum içersindedir.

Ancak çift boyutlu NMR deneylerinden yararlanmak suretiyle yapılan ayrıntılı NMR veri değerlendirmelerinde, SA-7 kodlu bileşikle ilgili daha önceki çalışmalarda rapor edilmiş bulunan $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ değerlerinden bazılarının düzeltilmesi gerekmiştir. Daha önce SA-B kodlu bileşiğe ait $^{13}\text{C-NMR}$ bulguları rapor edilmemiş olduğundan, bu değerler ilk kez bu çalışmada verilmiş olmaktadır. Böylece çalışmamızın sonucunda SA-7 ve SA-B kodlu bileşiklerin yapıları doğrulanmış ve bu bileşiklere ait tüm spektral veriler kesin bir doğrulukla saptanmış olmaktadır.

ÖZET

Bu çalışmada, izokinolin alkaloidlerinin protopin alt grubundan olan protopin adlı bileşikten protopin N-oksit sentezlenmiştir. Daha sonra bu ürüne termal dekompozisyon uygulanmış ve elde edilen piroliz ürünlerinin yapıları spektral yöntemlerle incelenmiştir.

SUMMARY

In this study, protopine N-oxide has been synthesized from protopine, an isoquinoline alkaloid from the protopine subgroup. Then, this product has been subjected to thermal decomposition and the pyrolysis products have been investigated by spectral methods.

KAYNAKLAR

1. R. H. F. Manske, "*The Alkaloids*" , A. Brossi (Ed), **4**, p. 147, Academic Press (1954).
2. A. D. Cross, L. Dolejs, V. Hanus, M. Maturova and F. Santavy, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **30**, 1335 (1965); Masayuki Onda And Hiroshi Takahashi, in "*The Alkaloids*" A. Brossi (Ed), **34**, p. 182, Academic Press (1988).
3. R. M. Sotelo and D. Gia Copello, *Aust. J. Chem.* **25**, 385 (1922); Masayuki Onda And Hiroshi Takahashi, in "*The Alkaloids*" A. Brossi (Ed), **34**, p. 194, Academic Press (1988).
4. V. N. Burtsev, E. N. Dormidontov and V. N. Salyaev, *Kardiologia*, **76** (1978); Masayuki Onda And Hiroshi Takahashi, in "*The Alkaloids*" A. Brossi (Ed), **34**, p. 203, Academic Press (1988).
5. K. L. Yue, *Chung-Kuo Yao Li hsueh Pao*, **16** (1981); Masayuki Onda And Hiroshi Takahashi, in "*The Alkaloids*" A. Brossi (Ed), **34**, p. 203, Academic Press (1988).

6. J. Karados, G. Blasko and M. Simonyi, *Arzneim. Forsch.* **36**, 939 (1986); Masayuki Onda And Hiroshi Takahashi, in " *The Alkaloids* " A. Brossi (Ed), **34**, p. 203, Academic Press (1988).
7. Saeed SA. , Gilani AH. , Majoo RU. , Shah BH. ; *Pharmacol Res*, 1997 Jul, **36:1**, 1-7.
8. Teng CM. , Ko FN. , Wang JP. , Lin CN. , Wu TS. , Chen CC. , Huang TF. ; *J. Pharm. Pharmacol*, 1991 Sep, **43:9**, 667-9.
9. P. Friedlander and H. Ostermaler, *Ber.* , **14**, 1916 (1881).
10. A. Wohl and W. Aue, *Ber.* , **34**, 3442 (1901).
11. C. Mannich Arch. Pharm. 254, 348 (1916); *Chem. Abstr.* **12**, 149 (1918).
12. T. Ishii, *J. Pharm. Soc. Japan* **72**, 1315 (1952).
13. K. Isawa, P. Chinnasamy and M. Shamma, *J. Org. Chem.* **46**, 1378 (1981).
14. J. D. Phillipson and S. S. Handa, *Phytochemistry* **14**, 999 (1975).
15. W. Carruthers and R. A. W. Johnstone, *J. Chem. Soc.* , 1653 (1965).
16. L. D. Ouin and F. A. Shelburne, *J. Org. Chem.*, **30**, 3135 (1965).
17. J. B. Bremner and L. van Thuc, Aust. *J. Chem.*, **33**, 379 (1980).
18. Decker and Galatti, *Ber.* , **42**, 1179 (1909).
19. K. W. Bentley and A. W. Murray, *J. Chem. Soc.* , 2497 (1963).
20. W. Klötzer and W. E. Oberhänsli, *Helv. Chim. Acta* **56**, 2107 (1973).
21. J. Meisenheimer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **52**, 1667 (1919).
22. J. B. Bremner, E. J. Browne, P. E. Davies and L. van Thuc, Aust. *J. Chem.* **33**, 833 (1980).
23. J. B. Bremner, E. J. Browne, P. E. Davies, C. L. Raston A. H. White, Aust. *J. Chem.* **33**, 1323 (1980).

24. J. B. Bremner, E. J. Browne, P. E. Davies, *Aust. J. Chem.* **33**, 1335 (1980).
25. P. Chinnasamy, R. D. Minard and M. Shamma, *Tetrahidron* **36**, 1515 (1980).
26. B. Gözler and M. Shamma, *J. Chem Soc.*, Perkin Trans. I, 2431 (1983).
27. R. D. Haworth and W. H. Perkin, *J. Chem. Soc.*, 1769 (1926).
28. M. Polonovski, *Bull. Soc. Chim. Belges.* **39**, 1 (1930).
29. Hesse M., Meier H., Zeeh B., "*Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*", Thieme, Stuttgart, (1987).
30. Derome A. E., "*Modern NMR Techniques For Chemistry Research*", Pergamon Press, New York, (1987).
31. Erdik E., "*Organik Kimya Spektroskopik Yöntemler*", Gazi Büro Kitabevi, Ankara, (1993).
32. R. R. Munier and Machebouef, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **33**, 846 (1951); E. Sthal, "*Thin-Layer Chromatography*", 2nd ed., 873, Springer-Verleg, New York, (1969).
33. Iwasa K. and Narao T., *Heterocycles*, **20 (8)**, 1535-9 [Eng].

